

**UNIVERZITA KARLOVA
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA**

**SPECIÁLNÍ CHEMICKO-BIOLOGICKÉ OBORY
MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE A BIOCHEMIE ORGANISMŮ**



Iva Hammerbauerová

Využití celulózy a hemicelulózy jako zdroje energie symbiotickými prvky a dalšími organismy

Utilization of cellulose and hemicellulose as a source of energy by symbiotic protists and other organisms

Bakalářská práce

Vedoucí práce/Školitel: prof. RNDr. Jan Tachezy, Ph.D.

Praha, 2017

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracovala samostatně, pod vedením vedoucího prof. RNDr. Jan Tachezy, Ph.D., a s použitím použitím informačních zdrojů, které jsou v práci citovány a uvedeny v seznamu literatury. Tato práce nebyla využita k získání jiného titulu či kvalifikace.

.....

Iva Hammerbauerová

V Praze dne 15.5. 2017

Obsah

1. Abstrakt.....	1
2. Abstract.....	1
3. Úvod.....	2
4. Struktura celulózy a hemicelulóz.....	3
4.1 Celulóza.....	3
4.2 Hemicelulóza.....	4
4.2.1 Xylan.....	4
5. Štěpení celulózy.....	4
5.1 Celulolytické enzymy.....	4
5.1.1 Endoglukanázy.....	5
5.1.2 Exoglukanázy.....	5
5.1.3 β -glukosidázy.....	5
5.1.4 Fosforylázy.....	5
5.2 Mechanismy hydrolýzy.....	5
5.3 Výskyt celulolytických enzymů.....	6
5.4 Usnadnění štěpení.....	6
5.4.1 Celulózo-vazebná doména.....	6
5.4.2 Polysacharidové monooxygenázy.....	7
5.4.3 Fentonové reakce.....	7
5.4.4 Celobiózo-dehydrogenázy.....	7
5.4.5 Expansiny.....	7
5.4.6 Celulozóm.....	8
5.5 Aerobní a anaerobní metabolismus glukózy.....	8
5.5.1 Aerobní katabolismus glukózy.....	8
5.5.2 Anaerobní katabolismus glukózy.....	8
6. Štěpení hemicelulóz.....	9
6.1 Metabolismus xylózy.....	9
6.1.1 Izomerace.....	9
6.1.2 Oxidačně-redukční dráha.....	10
6.1.3 Oxidačně-dehydratační dráha.....	10
6.1.4 Aldózo-aldózo oxidoreduktáza.....	11
6.2 Metabolismus arabinózy.....	11
6.2.1 Izomerizace.....	11

6.2.2 Oxidačně-redukční dráha.....	11
6.2.3 Oxidačně-dehydratační dráha.....	12
7. Degradace celulózy a hemicelulóz v přírodě.....	12
7.1 Dřevokazné houby.....	12
7.1.1 Houby bílé hniloby.....	12
7.1.2 Houby hnědé hniloby.....	13
7.1.3 Houby měkké hniloby.....	14
7.2 Bacher přezvýkavců.....	15
7.2.1 Bakterie.....	15
7.2.2 Prvoci.....	16
7.2.3 Houby.....	17
7.3 Termiti.....	17
7.3.1 Nižší termiti.....	17
7.3.2 Vyšší termiti.....	19
8. Biotechnologický význam.....	20
8.1 Štěpení celulózy a hemicelulóz.....	20
8.2 Fermentace monosacharidů na ethanol.....	21
9. Závěr.....	22
Použitá literatura.....	23
Seznam ilustrací.....	33

1. Abstrakt

V této práci se zaměřuju na způsoby, kterými jsou enzymaticky degradovány strukturní polysacharidy rostlin celulóza a hemicelulóza. Popisuju enzymy zapojené do jejich štěpení a jejich funkci a rozšíření mezi organismy. Věnuji se také mechanismům katabolismu pentóz (xylózy a arabinózy) nacházejících se v hemicelulóze. Uvádím některé niky, ve kterých k degradaci celulózy a hemicelulózy dochází, a organismy, které se jí v těchto nikách účastní. Nakonec krátce ukazuju na biotechnologický význam těchto organismů ve výrobě bioethanolu.

Klíčová slova: celulóza, hemicelulóza, xylóza, prvok, symbióza

2. Abstract

In this thesis I focus on the enzymatic degradation of plant structural polysaccharides cellulose and hemicellulose. I describe the enzymes involved in their lysis and their breakdown and their function and occurrence among organisms. I also pay attention to the mechanisms of catabolism of pentoses found in hemicellulose (xylose and arabinose). I describe some niches where cellulose and hemicellulose degradation takes place and organisms that take part in it. Finally I shortly point out the biotechnological importance of these organisms in the production of bioethanol.

Key words: cellulose, hemicellulose, xylose, protist, symbiosis

3. Úvod

Rostlinná biomasa představuje velmi významnou část zásob uhlíku na zemi. Velký podíl z ní tvoří strukturní polymery rostlin, využívané jako výztuha buněčné stěny. Nejvyužívanějším z těchto polymerů je polysacharid celulóza, tvořící v průměru 40-60% rostlinné sušiny. Podle některých odhadů je celková hmotnost celulózy na Zemi až $9,2 \cdot 10^{11}$ tun (Duchesne a Larson, 1989).

Druhou největší složkou buněčné stěny rostlin je soubor různorodých polysacharidů nazývaný hemicelulóza. Ta tvoří přibližně 30% rostlinné sušiny (Pauly a Keegstra, 2008). V hemicelulóze se vyskytují různé cukry, včetně pentóz xylózy a arabinózy.

V celulóze a hemicelulóze je tedy uloženo obrovské množství uhlíku a energie. Štěpení a zpracování těchto polysacharidů má velký ekologický význam v globálním uhlíkovém cyklu. Navzdory dostupnosti a rozšíření celulózy není mnoho organismů, které by jí dokázaly energeticky využít. Ještě méně organismů je pak schopno zpracovat hemicelulózy, které obsahují pentózové cukry – ty lze energeticky využít jen s pomocí specifických metabolických drah.

Organismy schopné zpracování celulózy a hemicelulóz jsou také ekonomicky významní škůdci, kteří mohou narušovat dřevěné stavby.

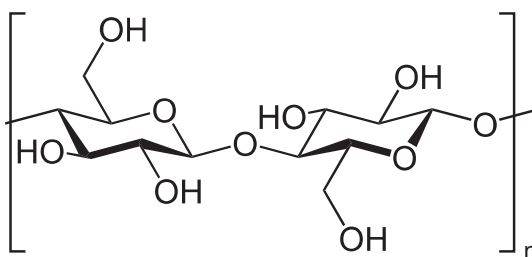
Kromě ekologického významu mají celulólytické a hemicelulólytické organismy velký potenciál pro biotechnologie. Jen 2% biomasy z buněčných stěn rostlin je v současnosti využíváno lidmi (Pauly a Keegstra, 2008). Organismy schopné celulólyzy a hemicelulólyzy a následné fermentace produktů štěpení mohou tuto snadno dostupnou a obnovitelnou biomasu využít k výrobě ethanolu, jako tzv. biopaliva druhé generace. Biopaliva první generace jsou vyráběny například z řepkového oleje nebo kukuřičného škrobu, které jsou využitelné i v potravinářství. Výroba bioethanolu z nich tedy probíhá na úkor jejich využití jako potrava. Naproti tomu celulóza ani hemicelulóza člověkem stravitelná není, výroba paliv z těchto polysacharidů by tedy nekonkurovala jejich potravinářského využití.

V této práci popíšu způsoby, jakými jsou celulóza a hemicelulóza degradovány, včetně následného metabolismu hemicelulóзовých pentóz, xylózy a arabinózy. Budu se také věnovat některým organismům, které tyto polysacharidy degradují.

4. Struktura celulózy a hemicelulóz

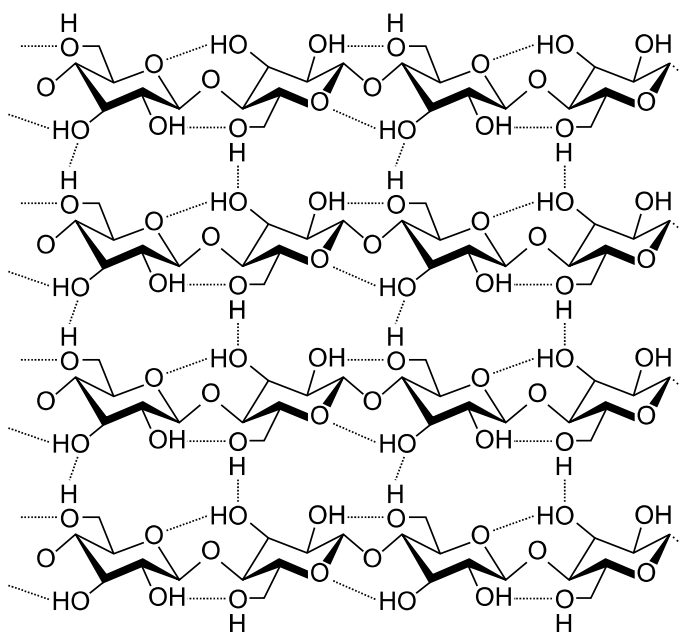
4.1 Celulóza

Celulóza je nevětvený lineární polymer z D-glukózových jednotek spojených 1-4 β -glukosidickými vazbami – první uhlík jedné glukózy je přes kyslík propojen s čtvrtým uhlíkem druhé molekuly glukózy, přičemž jsou roviny molekul vůči sobě otočeny o 180° . Strukturně je tedy základní jednotkou celulózy glukózový disacharid, celobióza.



Ilustrace 1: Celobióza

Díky tomuto uspořádání jsou všechny jednotky v celulóze v jedné rovině a jednotlivá vlákna se mohou skládat blízko k sobě, což usnadňuje tvorbu vodíkových můstků. V nativní celulóze jsou vlákna skládána paralelně (Hieta et al., 1984). Tak jsou molekuly celulózy pevně a těsně propojeny a není snadné je oddělit a štěpit. Svazky celulóзовých molekul vytváří tzv. celulóзовá mikrovlákná.



Ilustrace 2: Vodíkové můstky mezi celulóзовými vlákny

Pravidelná struktura celulóзовých vláken způsobuje, že části mikrovláken mají krystalickou strukturu (Atalla a Vanderhart, 1984). Podíl krystalické celulózy je v celulóзовé biomase většinou mezi 30% a 70% (Béguin a Aubert, 1994). Nekrystalické oblasti mikrovláken nazýváme amorfni celulóza.

Řetězce jsou složeny z tisíců glukóz, často je v jednom vlákně i přes 10 000 jednotek (Marx-Figini a Schulz, 1963).

4.2 Hemicelulóza

„Hemicelulóza“ je souhrnný název pro různorodé polysacharidy (vyjma škrobu) nacházející se vedle celulózy v buněčné stěně rostlin. Na rozdíl od celulózy jsou větvené a jejich struktura není krystalická. Hemicelulózy obsahují několik druhů cukrů: hexózy manózu a galaktózu, ale i pentózy xylózu a arabinózu. Mohou obsahovat i oxidované formy cukrů, konkrétně kyselinu glukuronovou a kyselinu galakturonovou. Cukry v hemicelulóze mohou být také acetylovány.

4.2.1 Xylan

Jako xylany označujeme hemicelulózy s hlavním řetězcem z D-xylózových jednotek spojených 1-4 β -glykosidickými vazbami. Z této kostry se mohou odvětlovat další řetězce složené z xylózy, případně i jiných cukrů a jejich derivátů. Podle toho dělíme xylany na homoxylany (složené jen z xylózy), glukuronoxylany (obsahující kyselinu glukuronovou), arabinoxylany (s arabinózou) a glukonoarabinoxylany. Xylany jsou nejrozšířenější hemicelulóza ve dřevě listnatých stromů. Xylóza v nich představuje 17,4% suché váhy dřeva (nejčastější cukr, glukóza, tvoří 50%) (Jeffries, 1983).

5. Štěpení celulózy

5.1 Celulolytické enzymy

Enzymy zpracovávající celulózu lze rozdělit do tří skupin: endoglukanázy, exoglukanázy a β -glukosidázy. Enzymy z prvních dvou kategorií nazýváme celulázami (využívají jako substrát celulózu). Endoglukanázy štěpí celulózu uvnitř řetězce, exoglukanázy pak od konce. Odštěpené úseky jsou pak zpracovány hydrolytickými β -glukosidázami nebo fosforylázami. Nejčastějším koncovým produktem štěpení celulózy je glukóza, která pak může být využita například jako zdroj energie v glykolytické dráze nebo anabolicky v syntéze škrobu.

5.1.1 Endoglukanázy

Endoglukanázy aneb endo-1,4- β -D-glukan glukanohydrolázy využívají jako substrát celulózu (celopolysacharidy a celooligosacharidy) a katalyzují hydrolýzu její glukosidické vazby v náhodných místech řetězce (Reese et al., 1950). Tím se vytvářejí nové konce vláken a substrát je tak dostupnější pro exoglukanázy, případně, je-li odštěpen dostatečně krátký oligosacharid, pro β -glukosidázy. Endoglukanázy mohou být i glykoproteiny (Eriksson a Pettersson, 1975). Jsou obecně nejaktivnější v amorfních (nekrystalických) oblastech celulóзовého substrátu (Sharma et al., 2016).

5.1.2 Exoglukanázy

Exoglukanázy katalyzují štěpení celulózy od konce řetězce (vždy specificky buď od redukujícího nebo neredukujícího konce) (Barr et al., 1996) a odštěpují celobiózu (takovéto enzymy pak můžeme nazývat celobiohydrolázami) nebo krátké oligosacharidy (MacKenzie et al., 1984; Bronnenmeier et al., 1991). Některé enzymy mohou mít jak endo-, tak exoglukanázovou aktivitu (Tomme et al., 1996). Exoglukanázy dokážou štěpit krystalickou celulózu (Teeri et al., 1998).

5.1.3 β -glukosidázy

Tyto enzymy odštěpují glukózu z neredukujícího konce krátkých oligosacharidů (do délky šesti molekul glukózy) nebo celobiózy (Festenstein, 1958).

5.1.4 Fosforylázy

Kromě hydroláz se do štěpení celooligosacharidů, resp. celobiózy, mohou zapojit i fosforylázy. Tyto enzymy využívají k štěpení vazby místo vody anorganický fosfát a uvolňují tak místo glukózy glukózu-1-fosfát (Ayers, 1959; Sheth a Alexander, 1969).

5.2 Mechanismy hydrolýzy

Glukosidázy lze podle mechanismu jejich katalýzy rozdělit na dva druhy: ty, které zachovávají uspořádání na anomerovém uhlíku (C1) (White a Rose, 1997) a ty, které ho invertují a tím vytváří jako produkt α -sacharid (například α -glukózu nebo α -cellobiózu) (Petersen et al., 2009). Tyto α formy pak mohou být transformovány na β -sacharidy pomocí aldózo-1-epimerázy (aneb mutarotázy) (Hucho a Wallenfels, 1971).

5.3 Výskyt celulolytických enzymů

Celulolytické enzymy se vyskytují u bakterií i eukaryot. Mezi bakteriemi je nalezneme nejčastěji u organismů z kmenů Actinobacteria, Bacteroids, Fibrobacteres, Firmicutes, Proteobacteria, Spirochaetes a Thermotogae, a to jak u aerobních, tak anaerobních bakterií. Většina celulolytických bakterií se nachází ve dvou řádech: anaerobní Clostridiales (kmen Firmicutes) a převážně aerobní Actinomycetes (kmen Actinobacteria) (Sharma et al., 2016). Dokonce 38% bakteriálních genomů obsahuje alespoň jeden gen pro celulázu (tj. endo- nebo exoglukanázu) (Mba Medie et al., 2012). Největší diverzita celulolytických enzymů je u bakterií z kmene Firmicutes. Genom *Clostridium thermocellum* kóduje 28 glykosyl-hydroláz (Koeck et al., 2014). Celulolytické bakterie jsou často termofilní (Lynd et al., 2002).

U eukaryot byly celulolytické enzymy popsány především u hub. Nejvíce celulolytických hub se nachází v oddělení Ascomycota, Basidiomycota a Deuteromycota. Celulolýzy jsou schopny jak jednoduché houby Chytridiomycota, tak evolučně novější Agaricomycota (Sharma et al., 2016). Celulolytické enzymy jsou produkovány i některými kvasinkami, například *Cryptococcus laurentii* (Souza et al., 2013).

Mezi živočichy jsou celulázy velmi vzácné. Endoglukanázy však byly popsány i u několika bezobratlých: termitů (Watanabe et al., 1998), několika zástupců hmyzu, například *Eurycantha calcarata* (strašilky ostruhaté) (Shelomi et al., 2014), nematoda *Meloidogyne incognita* (Béra-Maillet et al., 2000) a u některých plžů (Imjongjirak et al., 2008; Teng et al., 2010). V třídě Insecta (hmyz) byly geny pro endoglukanázy nalezeny u 27 druhů (Watanabe a Tokuda, 2010). U larev brouka *Ergates faber* (tesařík zavalitý) byly nalezeny dvě β -glukosidázy a celobiohydroláza (Chararas et al., 1983). Existují hypotézy o horizontálním genovém přenosu těchto genů od celulolytických mikrobů, ale nelze vyloučit, že se některé geny pro celulolýzu vyskytovaly už u společného předka prvoústých a druhoústých, a následně byly u většiny větví živočichů ztraceny (Lo et al., 2003).

Byly nalezeny dva anaerobní hypertermofilní archeoni, kteří dokážou degradovat celulózu, *Desulfurococcus fermentans* a *Thermogladius cellulolyticus* (Perevalova, 2005). V genomu *T. cellulolyticus* však nebyly nalezeny geny pro žádné známé celulázy, mechanismus celulolýzy u tohoto organismu tak není znám (Mardanov et al., 2012).

5.4 Usnadnění štěpení

5.4.1 Celulózo-vazebná doména

Kromě katalytické domény mohou mít celulolytické enzymy ještě jiné domény,

usnadňující štěpení substrátu. Časté jsou celulózo-vazebné domény (cellulose-binding domain, CBD), které substrát přidržují pro snazší dostupnost pro katalytickou doménu. CBD může být v enzymu i více (Irwin et al., 1998). Některé CBD navíc nekovalentními interakcemi rozvolňují krystalickou strukturu celulózy a tím jí zpřístupňují hydrolýze (Din et al., 1991).

5.4.2 Polysacharidové monooxygenázy

Nedávno objevené enzymy zvané polysacharidové monooxygenázy (PMO) štěpí a zároveň oxidují polysacharidové substráty. Provádí hydrolýzu glukosidické vazby a zároveň oxidaci nově vzniklého redukujícího konce. Produktem tak jsou dva kratší poly-/oligosacharidy. Oxidace může probíhat na obou nově vzniklých koncích – buď za vzniku aldonové kyseliny na redukujícím konci (Forsberg et al., 2011), nebo ketoskupiny na cukru na neredukujícím konci (Phillips et al., 2011). PMO byly nalezeny jak u bakterií, tak u hub (Phillips et al., 2011).

5.4.3 Fentonové reakce

Některé houby (hnědé a bílé hniloby) využívají k rozvolnění celulózy oxidaci volnými radikály (Goodell et al., 1997; Xu a Goodell, 2001). Trojmocné železo je chelátorem redukováno na dvojmocné, které se zpětně oxiduje za rozpadu peroxidu vodíku v této reakci:



Volný radikál pak napadá celulózu a přispívá tak k její depolymeraci.

5.4.4 Celobiózo-dehydrogenázy

Celobiózo-dehydrogenázy jsou využívány při celulólyze některými houbami. Tyto enzymy oxidují (s pomocí různých akceptorů elektronů) celobiózu na celobionolakton. Přítomnost celobiózo-dehydrogenázy zvyšuje efektivitu celulólyzy (Bao a Renganathan, 1992), důvod však není přesně znám (Henriksson et al., 2000).

5.4.5 Expansiny

Expansiny jsou původně rostlinné proteiny rozvolňující strukturu buněčné stěny a tím umožňující růst buněk, nejspíš přerušením nekovalentních interakcí mezi polysacharidovými molekulami. Jejich homology byly nalezeny i u některých bakterií, hub z kmene Ascomyceta a prvoků ze skupiny Amoebozoa. *Bacillus subtilis* s delecí expansinového homologu je méně schopen kolonizovat rostlinný materiál než wild-type, což ukazuje na zachovanou funkci

vazby na buněčnou stěnu a případně i interakce s ní (Kerff et al., 2008). Předpokládá se horizontální genový přenos od rostlin (Nikolaidis et al., 2014).

5.4.6 Celulozóm

Některé anaerobní bakterie, např. termofilní *Clostridium thermocellum*, organizují své celulytické enzymy do multiproteinových komplexů zvaných celulozomy (Lamed et al., 1983). Blízkost enzymů vykonávající související kroky celulólyzy výrazně zvyšuje jejich efektivitu, která je pro bakterie, které kvůli svému anaerobnímu fermentačnímu metabolismu nemají k dispozici mnoho energie, zásadní.

Celulozomy jsou tvořeny ze strukturních proteinů, scaffoldinů, obsahujících kohezin a enzymatických částí obsahujících dockerin. Komplex drží pohromadě díky pevné vazbě kohezinu a dockerinu. Celulozomy také obsahují vazebná místa pro celulózu nebo povrch buňky – některé celulozomy zůstávají připojené na membránu bakterie, zatímco jiné jsou extracelulární.

Kromě bakterií byly proteiny obsahující dockerinovou doménu nalezeny i u některých anaerobních hub (Huang et al., 2005).

5.5 Aerobní a anaerobní metabolismus glukózy

Glukóza vznikající štěpením celulózy bývá využita jako zdroj energie. To je možné dvěma způsoby, aerobně a anaerobně.

5.5.1 Aerobní katabolismus glukózy

Glukóza zde projde glykolýzou za zisku dvou ATP a dvou molekul pyruvátu. Pyruvát je převeden na acetyl-koenzym A, který vstupuje do citrátového cyklu. Tam vzniká jedno GTP. Koenzymy redukované v citrátovém cyklu pak předávají elektrony a protony do elektron-transportního řetězce, který pohání oxidativní fosforylaci pomocí ATP-syntázy. Zisk z oxidativní fosforylace bývá kolem 30 molekul ATP na jednu molekulu acetyl-koenzymu A (přesný počet je určen vlastnostmi ATP-syntázy konkrétního organismu. Odpadními produkty aerobního metabolismu glukózy je CO₂ a voda.

5.5.2 Anaerobní katabolismus glukózy

Při anaerobním metabolismu glukóza také prochází glykolytickou dráhou za zisku obvykle dvou molekul ATP. Vzniklý pyruvát pak vstupuje do některé fermentační dráhy (ethanolové, laktátové, butyrátové...), kde je oxidováno NADH vzniklé v glykolýze.

Produktem fermentace je organická molekula (ethanol, laktát, butyrát, propionát). Koncový produkt některých fermentací je acetát a vodík. U těchto organismů pak může existovat metabolická spolupráce s methanogeny, které vodík spotřebovávají (Béguin a Aubert, 1994).

6. Štěpení hemicelulóz

Některé endoglukanázy štěpící celulózu jsou schopny štěpit i jiné polysacharidy (například xylany) (Yuan et al., 2015), existují ale i specifické enzymy pouze pro hemicelulózové substráty. Popsány jsou například xylanázy (Sumizu et al., 1961) nebo arabinanázy (Kaji a Saheki, 1975). Kvůli rozmanitému složení hemiceluláz se do jejich degradace zapojuje mnoho různých enzymů – například xylan štěpí endoxylanázy (vytvářející kratší úseky z dlouhého polysacharidu), β -xylosidázy, α -L-arabinofuranosidázy a β -glukuronidázy (odštěpující z neredukujícího konce xylózu, resp. arabinózu nebo kyselinu glukuronovou), acetyl-xylan-esterázy (deacetylující xylan) a feruloyl-esterázy (hydrolyzující vazbu feruloylu na xylan) (Kim a Yoon, 2010).

Jelikož jsou hemicelulolytické enzymy podobné celulolytickým, zaměřím se zde na metabolismus těch jejich produktů, které dokážou zpracovat jen některé celulolytické organismy – pentózy xylózy a arabinózy.

6.1 Metabolismus xylózy

Většina organismů xylózu metabolizovat neumí. Některé organismy jsou ale schopny xylózu konvertovat na metabolit pentózo-fosfátové nebo fosfoketolázové dráhy, případně ji štěpit specifickou dráhou. Xylóza může být i fermentována na ethanol (před pentózo-fosfátovou dráhu a anaerobní glykolýzu). Byly popsány tři způsoby, kterými xylózu organismy využívají: izomerace, oxidačně-redukční dráha a oxidačně-dehydratační dráha.

6.1.1 Izomerace

Aldopentóza xylóza je zde izomerizována na keto-cukr xylulózu enzymem xylózo-izomeráza (Hochster a Watson, 1953). Xylulóza je poté fosforylována na xylulózu-5-fosfát, která může být fosfoketopentoepimerázou konvertována na ribulózu-5-fosfát (Stumpf a Horecker, 1956). Xylulóza-5-fosfát také může být xylulózo-5-fosfát-fosfoketolázou štěpena na acetyl-fosfát a glyceraldehyd-3-fosfát (Heath et al., 1958).

Izomerizovat xylózu až na málo výjimek dokážou pouze bakterie. V proteinové databázi Uniprot nalezneme 196 ověřených záznamů proteinů z rodiny xylózo-izomeráz v doméně Bacteria (www.uniprot.org). Při kultivaci s xylózou probíhá tato reakce například v

Escherichii coli (Schellenberg et al., 1984) nebo *Yersinii pestis* (Slein, 1955). Enzym často využívají i hypertermofilní organismy (Chang et al., 1999; Fatima et al., 2016).

Mezi eukaryoty můžeme gen pro xylózo-izomerázu nalézt u některých rostlin, například *Hordeum vulgare* (ječmen setý) (Kristo et al., 1996) nebo *Arabidopsis thaliana* (huseníček rolní), kde se ale o využívání enzymu v metabolismu pentóz neví (Maehara et al., 2013). Xylózo-izomeráza je produkována i bachorovou houbou *Orpinomyces* (Madhavan et al., 2009). Aktivita xylózo-izomerázy byla zaznamenána také u kvasinky *Candida utilis*, pokud byla inkubována v médiu s xylózou (Tomoyeda a Horitsu, 1964; Vongsuvanlert a Tani, 1988). Stejně tak kvasinka *Rhodotorula gracilis* (Hofer et al., 1971).

Xylózo-izomeráza dokáže kromě izomerace xylózy na xylulózu také konvertovat glukózu na fruktózu (opět izomerizace aldózy na ketózu), i když s menší afinitou. Tato její funkce se využívá při průmyslové výrobě fruktózového sirupu (Fatima et al., 2016).

6.1.2 Oxidačně-redukční dráha

Xylóza zde prochází dvěma reakcemi, redukcí a oxidací (Chiang a Knight, 1960). Nejprve je za oxidace NAD(P)H redukována enzymem xylózo-reduktázou na xylitol, který je pak oxidován na xylulózu xylitol-dehydrogenázou. Tato reakce zároveň vyžaduje redukcí NAD⁺. U druhů využívajících NADPH v první reakci (jako *Candida utilis*) může dojít k hromadění NADH z druhé reakce, které zde není xylózo-reduktázou oxidováno (Bruinenberg et al., 1984). Xylulóza je pak fosforylována na xylulózu-5-fosfát, která může být dále využívána v pentózo-fosfátové dráze.

Tento způsob zpracování xylózy využívají houby, včetně několika druhů kvasinek. Některé kvasinky dovedou růst na výlučně xylózovém médiu, jako například *Scheffersomyces stipitis*, která xylózu fermentuje na ethanol (Harcus et al., 2013). I některé kmeny *Saccaromyces cerevisiae* jsou schopny růstu na xylóze, avšak velmi pomalého (Wenger et al. 2010).

6.1.3 Oxidačně-dehydratační dráha

Xylóza je za redukce NAD(P)⁺ xylózo-dehydrogenázou oxidována na xylonolakton. Ten je xylonolaktonózou štěpen na xylonát, který je dehydratován na 2-keto-3-deoxyxylonát. Zde jsou dvě možnosti.

V tzv. Weimbergově dráze dochází k další dehydrataci, za vzniku α -ketoglutarového semialdehydu, který je pak za redukce NAD(P)⁺ oxidován na α -ketoglutarát.

Tato dráha byla popsána u několika málo bakterií (např. *Pseudomonas fragi* a

Caulobacter crescentus) a archeonů (Stephens et al., 2007; Weimberg, 1961; Johnsen et al., 2009; Johnsen et al., 2013)

V Dahmsově dráze je 2-keto-3-deoxyxylonát štěpen na pyruvát a glykolaldehyd. Tato dráha se vyskytuje pouze u některých bakterií, např. z rodu *Pseudomonas*, nebo *Caulobacter crescentus* (Choi et al., 2017; Dahms, 1974).

6.1.4 Aldózo-aldózo oxidoreduktáza

V roce 2015 byl v bakterii *Caulobacter crescentus* objeven gen pro aldózo-aldózo oxidoreduktázu, která z provádí redoxní reakci mezi dvěma molekulami xylózy za vzniku xylonátu a xylitolu. O využití tohoto enzymu v metabolismu se však zatím neví (Wiebe et al., 2015).

6.2 Metabolismus arabinózy

L-Arabinóza je druhou nejčastější pentózou vyskytující se v hemicelulózách. Je přítomna například v arabinoxylanech nebo arabinogalaktanech. Existují tři metabolické drahy, které jsou schopny arabinózu využít: izomerace, oxidačně-redukční dráha a oxidačně-dehydratační dráha.

6.2.1 Izomerizace

Tato dráha arabinózu izomerizuje enzymem L-arabinózo-izomeráza na L-ribulózu. Ta je pak L-ribulokinázou fosforylována na L-ribulóza-5-fosfát (Simpson a Wood, 1958). L-ribulóza-5-fosfát je pak enzymem L-ribulózo-5-fosfát 4-epimeráza převedena na D-xylulózu-5-fosfát, která pak může vstoupit do pentózo-fosfátové dráhy.

Dráhu využívají některé bakterie.

6.2.2 Oxidačně-redukční dráha

Arabinóza je za oxidace NADPH redukována na L-arabinitol. To je prováděno buď specifickým enzymem L-arabinózo-reduktázou nebo D-xylózo-reduktázou (deGroot et al., 2005; Seiboth et al., 2007). Arabinitol je za redukce NAD⁺ oxidován L-arabinitol-dehydrogenázou na L-xylulózu, která je při oxidaci NADPH redukována na xylitol. Dráha poté pokračuje jako oxidačně redukční zpracování xylózy, přeměnou xylitolu na D-xylulózu a její fosforylací na xylulóza-5-fosfát.

Tato dráha se vyskytuje u některých hub (Seiboth a Metz, 2011).

6.2.3 Oxidačně-dehydratační dráha

Zde je arabinóza nejdříve za redukce NADP⁺ oxidována na L-arabono- γ -lakton L-arabinóza 1-dehydrogenázou. Lakton je pak L-arabonolaktonázou hydrolyzován na L-arabonát (Weimberg a Doudoroff, 1955), který je pak L-arabonát-dehydratázou dehydrován na l-2-keto-3-deoxyarabonát. Stejně jako u metabolismu xylózy zde máme Weimbergovu a Dahmsovu dráhu.

l-2-keto-3-deoxyarabonát může být dehydratován na α -ketoglutarový semialdehyd, který je pak oxidován na kyselinu α -ketoglutarovou, intermediát citrátového cyklu (Novick a Tyler, 1982). Tato dráha se vyskytuje u některých bakterií, jako *Azospirillum brasiliense*, není však příliš rozšířená. Byla nalezena i u archeona *Haloferax volcanii* (Johnsen et al., 2013).

Další možnost zpracování l-2-keto-3-deoxyarabonátu je jeho rozštěpení aldolázou na pyruvát a glykoaldehyd. Tato dráha byla objevena např. u bakterií z rodu *Pseudomonas*, je však vzácná (Dahms a Anderson, 1969).

7. Degradace celulózy a hemicelulóz v přírodě

Rostlinnou biomasu můžeme nalézt v mnoha biotopech a stejně tak i organismy, které ji zpracovávají. V této části popíšu některé niky, ve kterých dochází ke štěpení a degradaci celulózy, případně hemicelulóz.

7.1 Dřevokazné houby

Některé houby dokážou růst na živém nebo padlém dřevě a zpracovávat lignocelulózu tj. působit hnilobu dřeva. Podle projevů infekce těmito houbami je dělíme na tři skupiny: houby bílé hniloby, houby hnědé hniloby a houby měkké hniloby.

7.1.1 Houby bílé hniloby

Tyto houby z oddělení Basidiomycota (stopkovýtrusé) rozkládají lignin - komplexní polymer obsažený ve dřevě – a někdy celulózu a hemicelulózu. Celulolytickým enzymům pomáhají celulózo-vazebné domény, fentonové reakce, celobiózo-dehydrogenázy a polysacharidové monooxygenázy. U hub bílé hniloby se také objevují hemicelulolytické enzymy (Hori et al., 2013; Bhattacharya et al., 2015). Některé z těchto hub dokážou i efektivně fermentovat xylózu, nebo arabinózu (s menším výtěžkem), na ethanol (Okamoto et al., 2014; Im et al., 2016).

Tyto houby rozkládají především dřevo listnatých stromů (McFee a Stone, 1966).

Mohou být jak saprofytické, tak parazitické (a posléze saprofytické) (Gramss, 2007). Jejich přítomnost se projevuje bílými křehkými částmi ve dřevě – celulóza zbylá po preferenčním rozkladu ligninu (Blanchette, 1980). Známou zástupkyní hub bílé hniloby je parazitická *Armillaria* (václavka). Podhoubí jednoho genetů (geneticky identické populace) *A. ostoyea* nalezené v severní Americe se rozkládá na ploše 965 ha, což z této houby dělá největší známý organismus na světě (Ferguson et al., 2003).



Ilustrace 3: Dřevo postihlé bílou hnilobou

7.1.2 Houby hnědé hniloby

Stopkovýtrusé houby hnědé hniloby degradují celulózu a v menší míře hemicelulózy, a lignin pouze rozvolňují. K depolymeraci polysacharidů využívají fentonové oxidační reakce – u některých hub tyto reakce úplně nahradily funkci celobiohydroláz, které nejsou produkovány (Arantes et al., 2012). U glykosyl-hydroláz hub hnědé hniloby taky nenalezneme celulózo-vazebné domény (Bhattacharya et al., 2015). Houby hnědé hniloby mohou exprimovat celobiózo-dehydrogenázy (Schmidhalter a Canevascini, 1992). Přestože můžeme v genomech těchto hub nalézt geny pro polysacharidové monooxygenázy, nejsou exprimovány. Celková diverzita celulolytických a hemicelulolytických enzymů je u hub hnědé hniloby menší než u hub bílé hniloby (Hori et al., 2013). Některé z těchto hub fermentují xylózu (Okamoto et al., 2012).

Tyto houby rozkládají především dřevo jehličnatých stromů. Mohou to být saprofyty i parazité (i obojí) (Gramss, 2007). Dřevo jimi kolonizované se stává měkké a získává tmavou, načervenalou barvu. Za několik desetiletí stráví houby hnědé hniloby 75% suché hmoty dřeva, což zhruba odpovídá obsahu neligninových polymerů (McFee a Stone, 1966). Známým

zástupcem je *Serpula lacrymans* (dřevomorka domácí), nejčastější houbový původce hniloby dřevěných staveb v mírném pásmu (Kausarud et al., 2007).



Ilustrace 4: Dřevo postihlé hnědou hnilobou

7.1.3 Houby měkké hniloby

Houby měkké hniloby jsou na rozdíl od předchozích typů hniloby ze skupiny Ascomycota (vřeckovýtrusé). Rozkládají celulózu a v menší míře hemicelulózy (Shrestha et al., 2009; Ries et al., 2013). Některé z hub měkké hniloby degradují i lignin (dokonce i preferenčně před polysacharidy) (Ferraz a Durán, 1995). Jejich glykosyl-hydrolázy mohou obsahovat celulózo-vazebné domény (Le Costaouéc et al., 2013). Houby měkké hniloby mohou produkovat i celobiózo-dehydrogenázy (Dekker, 1980). Parazit dubu *Chalara quercina* dokáže fermentovat xylózu, a to dokonce preferenčně před glukózou (Beckman et al., 1953). *Aspergillus niger* fermentuje xylózu i arabinózu (Witteveen et al., 1989). Míra rozkladu dřeva je menší než u hub bílé nebo hnědé hniloby (Vane et al., 2005).

Houby měkké hniloby rostou většinou v mokřím prostředí (dřevo ponořené do vody), kde degradují jen tenkou vrstvu na povrchu (Savory 1954). Penetrace je nejspíš omezena malým obsahem kyslíku v zaplavených oblastech, což je také důvod, proč v těchto místech ostatní hnilobné houby nerostou (Worrall, 1983). Houby měkké hniloby se mohou vyskytovat i v jiných extrémních prostředích: na suchém dřevě v pouštních hrobkách (Blanchette et al., 1994), ve zvýšených teplotách (52° pro *Humicola insolens*) (Ellis, 1982) nebo v chladném a zasoleném prostředí dřevěných staveb v Antarktidě (Blanchette et al., 2004). Dokážou také rozkládat dřevo s vysokým obsahem tříslovin (polyfenolické sloučeniny), na rozdíl od hub bílé či hnědé hniloby (Vane et al., 2005). Napadení dřeva měkkou hnilobou poznáme podle

jeho změknutí a případně i zbarvení do hněda či šedomodra (Savory, 1954). *Penicillium chrysogenum*, plíseň, z níž byl izolován penicilin, je houba měkké hniloby (Hamed, 2013).



Ilustrace 5: Dřevěná stavba napadená houbou měkké hniloby z rodu Chaetomium

7.2 Bachor přežvýkavců

Potrava býložravých přežvýkavců, rostlinná biomasa, obsahuje mnoho celulózy a hemicelulózy. Přežvýkavci však nemají vlastní glukonázy, dokážou materiál pouze mechanicky narušit žvýkáním. Vytvořily si proto symbiotický vztah s celulolytickými mikroorganismy, které žijí v jejich trávicím traktu. Nejvíce celulolytických a hemicelulolytických organismů žije v bachoru. Bachor je první a největší ze série čtyř žaludků u přežvýkavců. Prostředí v něm je anaerobní, pouze výjimečně do něj pronikne vzduch.

7.2.1 Bakterie

Analýza sekvencí 16S rRNA z bachoru přežvýkavců v genových knihovnách ukázala 341 různých operačních taxonomických jednotek (bakteriální taxon podobný druhu) (Edwards et al., 2004). Jen některé z nich se zapojují do degradace buněčných stěn tráveného materiálu. Bakterie zpracovávající polysacharidy v bachoru pochází především ze tří kmenů: Firmicutes, Bacteroidetes a Fibrobacter (Tajima et al., 1999).

Prvním krokem v trávení biomasy je rozklad struktury buněčné stěny a uvolnění polysacharidů. Toho jsou schopny pouze některé bakterie, například *Ruminococcus flavefaciens*, které poté využívají celulózu a někdy hemicelulózy (Morris a Van Gylswyk, 1980). Bakterie degradující xylan pochází především ze skupin Bacteroidetes a Firmicutes

(Wang et al., 2011). Z osmi bakteriálních kmenů štěpících hemicelulózu ji dokázaly pouze tři kmeny využít jako zdroj energie pro růst (Dehority 1965). Uvolněné polysacharidy využívají jiné bakterie, i ty, které je sami nedokážou uvolnit ze strukturované buněčné stěny, jako *Bacteroides ruminicola* (Morris a Van Gylswyk, 1980). Některé bakterie fermentují pentózy (Strobel a Dawson, 1993).

Celulozomální organizace enzymů byla mezi bachorovými bakteriemi nalezena jen u některých zástupců rodu *Ruminococcus* (Ding et al., 2001; Ohara et al., 2000).

Přestože je většina bakterií v bachoru anaerobní a kyslík je pro ně toxický, existují i aerotolerantní druhy, které kyslík spotřebovávají a tím ho odstraňují z prostředí (Ellis et al., 1989).

Mezi organismy žijícími v bachoru existují vzájemně prospěšná metabolická propojení, a to nejen mezi bakteriemi, ale i s jinými organismy – například přítomnost methanogenních archeonů (kteří využívají plyný vodík) podporuje růst fermentujících acetogenních bakterií, které vodík vylučují (Latham a Wolin, 1977).

7.2.2 Prvoci

V bachoru se vyskytují prvoci z podtřídy Trichostomatia kmene Ciliophora (jedná se tedy o bičíkaté prvoky), přičemž až cca 90% tvoří zástupci rodu *Entodinium* (Cedrola et al., 2015; Hristov et al., 2001). Tito prvoci bývají velcí, například *Eudiplodinium* bývá až 150 µm dlouhé a 100 µm široké (Clarke et al., 1982). Přestože se v přírodě nacházejí ve všech přežvýkavcích, zvířata dokážou žít i bez nich (Becker a Everett, 1930). Předpokládá se ale, že přítomnost prvoků v bachoru působí jako prevence proti acidóze, protože prvoci vstřebávají a ukládají cukry, které by jinak byly fermentovány bakteriemi na kyselinu mléčnou (Mackie et al., 1978; Denton et al., 2015).

Prvoci v bachoru štěpí škrob, celulózu nebo hemicelulózy. Prvoci z řádu Entodiniomorphida degradují strukturovanou biomasu pozřené trávy (Amos a Akin, 1978). Zajímavé na celulólytických a hemicelulólytických enzymech bachorových prvoků je to, že se vyskytují uvnitř buněk, například v lysozymech (Williams et al., 1986), a jen někdy jsou vylučovány do vnějšího prostoru (Williams, 1979). Prvoci totiž dokážou do svých buněk importovat polysacharidová vlákna a štěpit je až intracelulárně (to také vysvětluje jejich velikost) (Coleman, 1992). Přestože prvoci dokážou uvolňovat z hemicelulóзовých substrátů pentózy, žádný prvok z bachoru, který by je dále metabolizoval, nebyl dosud objeven.

Prvoci mívají symbiotické vztahy s jinými organismy v bachoru. Aerotolerantní prvoci, například *Eudiplodinium maggii* a *Polyplastron multivesiculatum*, pomáhají

spotřebovávat kyslík, který je pro jiné, striktně anaerobní bachorové organismy (například methanogenní archea) toxický (Ellis et al., 1989). Někteří prvoci produkující vodík mají ve svých buňkách populace methanogenních archaeonů, kteří vodík spotřebovávají na methanogenezi (Finlay et al., 1994). V buňkách bachorových prvoků byly nalezeny také endosymbiotické bakterie, především ze skupiny Proteobacteria (Irbis a Ushida, 2004).

7.2.3 Houby

V bachoru žijí také anaerobní houby z kmene Neocallimastigomycota. Vyskytují se ve všech přežvýkavcích (Gruninger et al., 2014). Bachorové houby byly první objevené anaerobní houby a až do 70. let byly kvůli svým bičíkům považovány za prvoky (Orpin, 1977).

Houby v bachoru dokážou degradovat rostlinný materiál (Akin et al., 1983). Mohou štěpit celulózu i xylan. Metabolismus polysacharidů je ale regulován a celulázy a hemicelulázy jsou produkovány jen pokud nejsou dostupné jednodušší substráty (volná glukóza) (Orpin a Letcher, 1979). Některé houby dokážou růst na xylóze, nebyl však zaznamenán metabolismus arabinózy (Mountfort a Asher, 1983; Lowe et al., 1987). *Orpinomyces* dokonce zpracovává xylózu pomocí xylózo-izomerázy, enzymu obvykle se vyskytujícího jen u bakterií (Madhavan et al., 2009).

U těchto hub nalezneme struktury podobné celulozómům, obsahující dockerinové domény (Steenbakkers et al., 2001).

7.3 Termiti

Termiti jsou sociální hmyz a živí se dřevem – lignocelulózou – a jinými rostlinnými materiály. V trávení jim pomáhají různé symbiotické organismy, které žijí v jejich střevě nebo jsou jimi pěstovány. Podle potravy, kterou využívají, a způsobu trávení termity dělíme na dvě skupiny: termity nižší a termity vyšší.

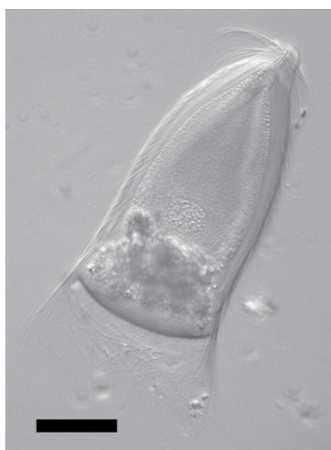
7.3.1 Nižší termiti

Tito termiti degradují celulózu velmi efektivně – jsou schopni zpracovat až 99% požřené celulózy (Prins a Kreulen, 1991), 84% xylanu a 77% mananu (Esenther a Kirk, 1974). Trávení je ve střevě fyzicky rozděleno – endoglukanázová aktivita probíhá především v zadním střevě a β -glukosidázová v středním střevě (Xiao, 2015). Lignocelulóza je zpracovávána jak vlastními enzymy termita, tak prvoky a bakteriemi (Peterson et al. 2015).

Nižší termiti produkují své vlastní endoglukanázy (Watanabe et al., 1998). Ty jsou

produkovány především v jejich slinných žlázách (Tokuda et al., 2004).

K trávení krystalické celulózy (a hemicelulóz) jsou nezbytní prvoci z říše Excavata, z taxonů Parabasalia a Preaxostyla. V různých druzích nižších termitů bylo objeveno 434 druhů těchto prvoků (Prins a Kreulen, 1991). Po odstranění prvoků ze střeva (tzv. defaunaci) termiti nedokážou přežít na dřevě jako zdroji potravy (Cleveland, 1924). Druhy prvoků obývajících střevo se liší podle druhu termitího hostitele (Brune, 2014). Odpadním produktem jejich metabolismu je acetát (nebo jiné krátké mastné kyseliny), který pak termit vstřebá a využije (Odelson a Breznak, 1983). Prvoci produkují endo- i exoglukanázy i β -glukosidázy. Velcí prvoci dokážou fagocytovat celulózová vlákna (Cleveland, 1924). Tito velcí prvoci mohou být závislí na celulóze jako zdroji uhlíku – pokud jsou termiti krmeni škrobem, populace velkých prvoků (např. *Mixotricha paradoxa*) vymřou (Veivers et al., 1983). Někteří endosymbiotičtí prvoci termitů, například *Dinenympha parva*, dokážou žít s xylanem jako jediným zdrojem uhlíku. Jiní, jako *Teratonympha mirabilis*, na xylanu přežít nedokážou (Inoue et al., 1997).



Ilustrace 6: Prvok Trichonympha campanula izolovaný z termita Zootermopsis angusticollis. Grafické měřítko má délku 50 μ m.

Bakterie ve střevě nižších termitů většinou slouží jako symbionti prvoků (Berchtold et al., 1999). 70% bakteriálních buněk v trávicím traktu termita *Coptotermes formosanus* tvoří nekultivovaný fylotyp bakterie z řádu Bacteroidales, endosymbiont prvoka *Pseudotrichonympha grassei*. Tato bakterie fixuje dusík a asimiluje dusíkaté odpadní produkty prvoka (amoniak, močovinu), a fermentuje glukózu, hexuronové kyseliny a xylózu (Hongoh et al., 2008). Jiné bakterie slouží jako ektosymbionti (vnější symbionti) prvoků. Ektosymbiont prvoků rodu *Dinenympha*, patřící do řádu Bacteroidales, obsahuje geny pro celulolytické a hemicelulolytické enzymy a je schopen fermentovat xylózu a arabinózu (Yuki et al., 2015).

Jen díky mnoha pohyblivým ektosymbiontům z třídy Spirochaetes připojených na jeho membránu je velký prvok *Mixotricha paradoxa* schopen pohybu (Cleveland a Grimstone, 1964).

V nižších termitech nalezneme i archeony – methanogenní rod *Methanovibribacter* (Shi et al., 2015). Tyto archaea spotřebovávají H_2 vytvářený anaerobními prvoky s hydrogenozomy a produkují methan, který pak termit vyloučí (Hackstein a Stumm, 1994).

7.3.2 Vyšší termiti

Vyšší termiti (čeleď Termitidae) jsou velmi důležitými rozkladači dřeva. V suchých tropických oblastech mohou být vyšší termiti z podčeledi Macrotermitinae zodpovědní až za 90% degradace mrtvého dřeva (Buxton, 1981). Někteří vyšší termiti dokážou zužitkovat až 97% celulózy (Prins a Kreulen, 1991). Stejně jako nižší termiti mají vyšší termiti vlastní endoglukanázové enzymy (Bujang et al., 2014). V jejich střevě také žijí endosymbiotické bakterie, ne však prvoci. Některé druhy těchto termitů navíc pěstují houby, které jim mohou pomáhat ve zpracování potravy.

Celulázy termita (endoglukanáza a β -glukosidáza) jsou aktivní především ve středním střevě (Xiao, 2015). U termita *Nasutitermes takasagoensis* je střední střevo místem většiny degradace celulózy (Tokuda et al., 2005).

Vyšší termiti z podčeledi Macrotermitinae mají vyvinutý symbiotický vztah se stopkovýtrusými houbami z rodu *Termitomyces* (Aanen et al., 2002). Jedná se o houby bílé hniloby. Tyto houby termiti pěstují na plástvích ze svých výměšků (které obsahují nenatrávenou rostlinou biomasu). Houby pro termity mohou být prospěšné více způsoby. Pozřením houby termiti získají i její proteiny – hydrolytické enzymy. Ty pomáhají v trávení celulózy a hemicelulóz vlastním enzymům termita který produkuje jenom endo-, nikoli však exoglukanázu (Martin a Martin, 1979; Martin a Martin, 1978). V koloniích některých termitů (např. *Macrotermes gilvus*) houby preferenčně degradují lignin. Termiti pak staré plástve požírají a zpracovávají polysacharidy, které jsou nyní bez ligninu snáze přístupné enzymům (a které při prvním průchodu trávicím traktem nedokázali využít) (Hyodo et al., 2000). Není však jisté, zda je funkce hub závislá na druhu termitů, nebo na potravě, kterou termiti využívají (a staví z ní plástve) (Hyodo et al., 2003).

Bakteriální populace ve střevě vyšších termitů jsou rozmanitější než u nižších termitů. To je způsobeno i složitější, kompartmentovanou stavbou zadního střeva vyšších termitů. V různých částech střeva tak mohou být různé podmínky a různé druhy bakterií (Kohler et al., 2012). Obecně u vyšších termitů nalezneme nejvíce bakterií z kmenů Spirochaetes, Firmicutes

a Bacteroidetes. U termitů živících se dřevem byl nalezen větší podíl Spirochaetes než u termitů živících se půdou či humusem, ale rozdíly mezi druhy a kompartmenty jsou stále výrazné (Rossmassler et al., 2015). U termitů druhu *Nasutitermes takasagoensis* živících xylanem, celobiózou nebo glukózou převažovaly Bacteroidetes a termity krmící xylózou měli největší podíl bakterií skupiny Firmicutes. Termity tohoto druhu, kterým byla poskytnuta jen celulóza jako zdroj uhlíku, měli větší úmrtnost než jedinci krmící xylanem, jsou tedy schopni efektivního využívání xylanu (Miyata et al., 2007). U termita *Pseudacanthotermes militaris* byly nalezeny enzymy štěpící arabinany (Arnal et al., 2015), fermentace arabinózy ale nebyla popsána.

8. Biotechnologický význam

Celulóza a hemicelulózy představují velkou část biomasy na Zemi, biomasy, která ale není snadno energeticky využitelná. Existují však snahy tyto substráty enzymaticky převádět na bioethanol, který může sloužit jako palivo – tzv. biopalivo druhé generace. Organismy (nebo jejich enzymy) jsou při tomto zpracování využívány nejprve k rozštěpení celulózy a hemicelulóz na monosacharidy, a poté na fermentaci monosacharidů na ethanol. Jen krátce zde uvedu příklady využití celulo- a hemicelulolytických organismů v tomto procesu.

8.1 Štěpení celulózy a hemicelulóz

Tento proces je prováděn s pomocí enzymů z organismů, které (hemi)celulózu v přírodě štěpí. Nejvyužívanějším organismem pro výrobu enzymů na enzymatickou konverzi celulózy a hemicelulóz na monosacharidy je *Trichoderma reesei* (vřeckovýtrusá houba měkké hniloby) (Gusakov, 2011). U této houby bylo popsáno devět proteinů zapojujících se do degradace celulózy: pět endoglukanáz, dvě celobiohydrolázy a dvě β -glukosidázy. Na štěpení hemicelulóz umí *T. reesei* produkovat čtyři xylanázy, mananázu, xylan esterázu, α -glukuronidázu, arabinofuranosidázu, β -xylosidázu a tři α -galaktosidázy (Foreman et al., 2003). Některé z jejich celuláz obsahují celulózo-vazebné domény (Markov et al., 2005). Kromě glykosyl-hydroláz produkuje *T. reesei* i polysacharidové monooxygenázy (Pierce et al., 2017) a swollenin, protein příbuzný rostlinným expanzinům, který rozvolňuje celulózová vlákna (Saloheimo et al., 2002). Průmyslově využívané kmeny *T. reesei* mívají nižší aktivitu β -glukosidáz, ty proto bývají doplňovány z jiné houby, *Aspergillus niger*, kde je jejich aktivita vysoká (Nieves et al., 1997).

8.2 Fermentace monosacharidů na ethanol

Tento proces může probíhat zároveň se štěpením polysacharidů nebo po něm, v oddělené nádrži. Nejpoužívanějšími organismy jsou zde kvasinka *Saccharomyces cerevisiae* a bakterie *Zymomonas mobilis* (třída Alphaproteobacteria) (Paulova et al., 2015). Tyto organismy přirozeně fermentují hexózy, nikoli však pentózy. Lze ale využít geneticky modifikované kmeny.

Z. mobilis může být modifikována k fermentaci xylózy. Pro využívání izomerační dráhy metabolismu xylózy potřebuje xylózo-izomerázu, xylulózo-kinázu a enzym pentózo-fosfátové dráhy transketolázu, který umožní xylulózu-5-fosfát žít k výrobě fruktózy-6-fosfát. Fruktóza-6-fosfát může pak být využita v glykolytické Entner-Doudoroffově dráze a následné fermentaci. Tyto geny jsou do *Z. mobilis* vloženy z *E.coli* (Zhang et al., 1995). *Z. mobilis* také může být geneticky modifikována pro metabolismus arabinózy izomerační dráhou, jsou-li do ní vloženy geny pro L-arabinózo-izomerázu, L-ribulokinázu, L-ribulózo-5-fosfát-4-epimerázu a dva enzymy pentózo-fosfátové dráhy transaldolázu a transketolázu (Deanda et al., 1996). Efektivita fermentace pentóz není moc vysoká, ale lze ji zvýšit přidáním genu pro specifický transpotér nebo delší kultivací s pentózami umožňující adaptivní mutace (Dunn a Rao, 2014; Dunn a Rao, 2015).

Za účelem fermentace pentóz na ethanol může být geneticky modifikována i *S. cerevisiae*. Byly vytvořeny kmeny exprimující bakteriální enzym xylózo-izomerázu (např. z *Clostridium phytofermentans*), jejíž produktem je xylulóza, kterou nativní *S. cerevisiae* umí fermentovat (produkuje xylulokinázu, která xylulózu fosforyluje na xylulózu-5-fosfát, intermediát pentózo-fosfátové dráhy) (Brat et al., 2009). Další možností je vložení genů pro proteiny oxidačně-redukční dráhy, xylózo-reduktázu a xylitol-dehydrogenázu (např. z *Pichia stipitis*) (Ho et al., 1998). Byly připraveny i kmeny *S. cerevisiae* metabolizující arabinózu, buď izomerační, nebo oxidačně-redukční dráhou (Wang et al., 2013).

9. Závěr

Popsala jsem enzymy a metabolické dráhy, které se účastní katabolismu celulózy a hemicelulózy. V této oblasti výzkumu je však stále co objevovat.

Gen pro xylózo-izomerázu se vyskytuje u bakterií, ale také v několika skupinách eukaryot: u rostlin, hmyzu a měkkýšů, vždy však jen sporadicky. Není objasněno, zda, případně kdy, tato rozmanitá eukaryota gen pro xylózo-izomerázu získala horizontálním genovým přenosem od bakterií, nebo zda se tento gen vyskytoval už u společného předka některých eukaryotických skupin a byl posléze u většiny z nich ztracen.

Většinu mikroorganismů z trávicích traktů přežvýkavců se zatím nedaří kultivovat v laboratoři. To ztěžuje jejich výzkum, který může být užitečný pro veterinářství nebo chovatelství.

Expresí genů pro enzymy katabolismu pentóz v organismech používaných v průmyslových fermentacích nepřináší ideální zisk produktu. Je tedy třeba hledat geny pro další proteiny, které s fermentací pentóz souvisí, nebo organismy, jejichž geny hostitel snáze zapojí do svého metabolismu. Nejjednodušší, izomerační, metabolické dráhy pro zpracování pentóz se nachází u bakterií. Geny bakterií ale průmyslově využívaná kvasinka *S. cerevisiae* nepřijímá tak snadno, jako geny z eukaryot. Nadějí v tomto směru by mohl být prvek *Mastigamoeba balamuthi*. V Laboratoři molekulární biologie a biochemie parazitických prvků na Přírodovědecké fakultě UK bylo objeveno, že tento prvek dokáže efektivně katabolizovat xylózu a arabinózu za využití izomerační dráhy. Pentózovému metabolismu tohoto prvoka se v laboratoři věnuji a ráda bych ho zkoumala dále.

Použitá literatura

- Aanen, D. K., P. Eggleton, C. Rouland-Lefevre, T. Guldberg-Froslev, S. Rosendahl, a J. J. Boomsma. 2002. The evolution of fungus-growing termites and their mutualistic fungal symbionts. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99 (23): 14887–92.
- Akin, D. E., G. L. Gordon, a J. P. Hogan. 1983. Rumen bacterial and fungal degradation of *Digitaria pentzii* grown with or without sulfur. *Applied and Environmental Microbiology* 46 (3): 738–48.
- Amos, H. E., a D. E. Akin. 1978. Rumen protozoal degradation of structurally intact forage tissues. *Applied and Environmental Microbiology* 36 (3): 513–22.
- Arantes, V., J. Jellison, a B. Goodell. 2012. Peculiarities of brown-rot fungi and biochemical Fenton reaction with regard to their potential as a model for bioprocessing biomass. *Applied Microbiology and Biotechnology* 94 (2): 323–38.
- Arnal, G., G. Bastien, N. Monties, A. Abot, V. Anton Leberre, S. Bozonnet, M. O'Donohue, a C. Dumon. 2015. Investigating the function of an arabinan utilization locus isolated from a termite gut community. *Applied and Environmental Microbiology* 81 (1): 31–39.
- Atalla, R. H., a D. L. Vanderhart. 1984. Native cellulose: A composite of two distinct crystalline forms. *Science* 223 (4633): 283–85.
- Ayers, W. A. 1959. Phosphorolysis and synthesis of cellobiose by cell extracts from *Ruminococcus flavefaciens*. *The Journal of Biological Chemistry* 234 (listopad): 2819–22.
- Bao, W., a V. Renganathan. 1992. Cellobiose oxidase of *Phanerochaete chrysosporium* enhances crystalline cellulose degradation by cellulases. *FEBS Letters* 302 (1): 77–80. doi:10.1016/0014-5793(92)80289-S.
- Barr, B. K., Y. L. Hsieh, B. Ganem, a D. B. Wilson. 1996. Identification of two functionally different classes of exocellulases. *Biochemistry* 35 (2): 586–92.
- Becker, E. R., a Ralph C. Everett. 1930. Comparative growths of normal and infusoria-free lambs. *American Journal of Epidemiology* 11 (2): 362–70.
- Beckman, C. H., J. E. Kuntz, a A. J. Riker. 1953. The growth of the oak wilt fungus with various vitamins and carbon and nitrogen sources. *Phytopathology*. (září)
- Béguin, P., a J. Aubert. 1994. The biological degradation of cellulose. *FEMS Microbiology Reviews* 13 (1): 25–58.
- Béra-Maillet, C., L. Arthaud, P. Abad, a M. N. Rosso. 2000. Biochemical characterization of MI-ENG1, a Family 5 endoglucanase secreted by the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *European Journal of Biochemistry* 267 (11): 3255–63.
- Berchtold, M., A. Chatzinotas, W. Schönhuber, A. Brune, R. Amann, D. Hahn, a H. König. 1999. Differential enumeration and in situ localization of microorganisms in the hindgut of the lower termite *Mastotermes darwiniensis* by hybridization with rRNA-targeted probes. *Archives of Microbiology* 172 (6): 407–16.
- Bhattacharya, A. S., A. Bhattacharya, a B. I. Pletschke. 2015. Synergism of fungal and bacterial cellulases and hemicellulases: a novel perspective for enhanced bio-ethanol production. *Biotechnology Letters* 37 (6): 1117–29.
- Blanchette, R. A., B. W. Held, J. A. Jurgens, D. L. McNew, T. C. Harrington, S. M. Duncan, a R. L. Farrell. 2004. Wood-destroying soft rot fungi in the historic expedition huts of Antarctica. *Applied and Environmental Microbiology* 70 (3): 1328–35.
- Blanchette, R. A. 1980. Wood decomposition by *Phellinus* (*Fomes*) *Pini*: A scanning electron microscopy study. *Canadian Journal of Botany* 58 (13): 1496–1503.

- Blanchette, R. A., J. E. Haight, R. J. Koestler, P. B. Hatchfield, a D. Arnold. 1994. Assessment of deterioration in archaeological wood from Ancient Egypt. *Journal of the American Institute for Conservation* 33 (1): 55.
- Brat, D., E. Boles, a B. Wiedemann. 2009. Functional expression of a bacterial xylose isomerase in *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied and Environmental Microbiology* 75 (8): 2304–11.
- Bronnenmeier, K., K. P. Rücknagel, a W. L. Staudenbauer. 1991. Purification and properties of a novel type of exo-1,4-beta-glucanase (avicelase II) from the cellulolytic thermophile *Clostridium stercorearium*. *European Journal of Biochemistry* 200 (2): 379–85.
- Bruinenberg, P. M., P. H. M. de Bot, J. P. van Dijken, a W. A. Scheffers. 1984. NADH-linked aldose reductase: the key to anaerobic alcoholic fermentation of xylose by yeasts. *Applied Microbiology and Biotechnology* 19 (4): 256–60.
- Brune, A. 2014. Symbiotic digestion of lignocellulose in termite guts. *Nature Reviews Microbiology* 12 (3): 168–80.
- Bujang, N. S., N. A. Harrison, a N.-Y. Su. 2014. A phylogenetic study of endo-beta-1,4-glucanase in higher termites. *Insectes Sociaux* 61 (1): 29–40.
- Buxton, R. D. 1981. Termites and the turnover of dead wood in an arid tropical environment. *Oecologia* 51 (3): 379–84.
- Cedrola, F., M. Rossi, R. J. P. Dias, I. Martinele, a M. D'Agosto. 2015. Methods for taxonomic studies of rumen ciliates (Alveolata: Ciliophora): A brief review. *Zoological Science* 32 (1): 8–15.
- Clarke, R. T. J., M. J. Ulyatt, a A. John. 1982. Variation in numbers and mass of ciliate protozoa in the rumens of sheep fed chaffed alfalfa (*Medicago sativa*). *Applied and Environmental Microbiology* 43 (5): 1201–4.
- Cleveland, L. R. 1924. The physiological and symbiotic relationships between the intestinal protozoa of termites and their host, with special reference to *Reticulitermes flavipes* kollar. *The Biological Bulletin* 46 (5): 203–27.
- Cleveland, L. R., a A. V. Grimstone. 1964. The fine structure of the flagellate *Mixotricha paradoxa* and its associated micro-organisms. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 159 (977): 668–86.
- Coleman, G. S. 1992. The rate of uptake and metabolism of starch grains and cellulose particles by *Entodinium* species, *Eudiplodinium maggii*, some other Entodiniomorphid protozoa and natural protozoal populations taken from the ovine rumen. *The Journal of Applied Bacteriology* 73 (6): 507–13.
- Dahms, A. S. 1974. 3-Deoxy-D-pentulosonic acid aldolase and its role in a new pathway of D-xylose degradation. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 60 (4): 1433–39.
- Dahms, A. S., a R. L. Anderson. 1969. 2-Keto-3-deoxy-L-arabonate aldolase and its role in a new pathway of L-arabinose degradation. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 36 (5): 809–14.
- Deanda, K., M. Zhang, C. Eddy, a S. Picataggio. 1996. Development of an arabinose-fermenting *Zymomonas mobilis* strain by metabolic pathway engineering. *Applied and Environmental Microbiology* 62 (12): 4465–70.
- deGroot, M. J. L., W. Prathumpai, J. Visser, a G. J. G. Ruijter. 2005. Metabolic control analysis of *Aspergillus niger* L-arabinose catabolism. *Biotechnology Progress* 21 (6): 1610–16.
- Dehority, B. A. 1965. Degradation and utilization of isolated hemicellulose by pure cultures of cellulolytic rumen bacteria. *Journal of Bacteriology* 89 (červen): 1515–20.

- Dekker, R. F. H. 1980. Induction and characterization of a cellobiose dehydrogenase produced by a species of *Monilia*. *Microbiology* 120 (2): 309–16.
- Denton, B. L., L. E. Diese, J. L. Firkins, a T. J. Hackmann. 2015. Accumulation of reserve carbohydrate by rumen protozoa and bacteria in competition for glucose. *Applied and Environmental Microbiology* 81 (5): 1832–38.
- Din, N., N. R. Gilkes, B. Tekant, R. C. Miller, R. A. J. Warren, a D. G. Kilburn. 1991. Non-hydrolytic disruption of cellulose fibres by the binding domain of a bacterial cellulase. *Bio/Technology* 9 (11): 1096–99.
- Ding, S.-Y., M. T. Rincon, R. Lamed, J. C. Martin, S. I. McCrae, V. Aurilia, Y. Shoham, E. A. Bayer, a H. J. Flint. 2001. Cellulosomal scaffoldin-like proteins from *Ruminococcus flavefaciens*. *Journal of Bacteriology* 183 (6): 1945–53.
- Duchesne, L. C., a D. W. Larson. 1989. Cellulose and the evolution of plant life. *BioScience* 39 (4): 238–41.
- Dunn, K. L., a C. V. Rao. 2014. Expression of a xylose-specific transporter improves ethanol production by metabolically engineered *Zymomonas mobilis*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 98 (15): 6897–6905.
- . 2015. High-throughput sequencing reveals adaptation-induced mutations in pentose-fermenting strains of *Zymomonas mobilis*. *Biotechnology and Bioengineering* 112 (11): 2228–40.
- Edwards, J., N. R. McEwan, A. J. Travis, a R. J. Wallace. 2004. 16S rDNA library-based analysis of ruminal bacterial diversity. *Antonie Van Leeuwenhoek* 86 (3): 263–81.
- Ellis, D. H. 1982. Ultrastructure of thermophilic fungi. *Transactions of the British Mycological Society* 78 (1): 129–39.
- Ellis, J. E., A. G. Williams, a D. Lloyd. 1989. Oxygen consumption by ruminal microorganisms: protozoal and bacterial contributions. *Applied and Environmental Microbiology* 55 (10): 2583–87.
- Eriksson, K. E., a B. Pettersson. 1975. Extracellular enzyme system utilized by the fungus *Sporotrichum pulverulentum* (*Chrysosporium lignorum*) for the breakdown of cellulose. 1. Separation, purification and physico-chemical characterization of five endo-1,4-beta-glucanases. *European Journal of Biochemistry* 51 (1): 193–206.
- Esenther, G.R., a T. K. Kirk. 1974. Catabolism of aspen sapwood in *Reticulitermes flavipes* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Annals of the Entomological Society of America* 67 (6): 989–91.
- Fatima, B., M. N. Aftab, a I.-U. Haq. 2016. Cloning, purification, and characterization of xylose isomerase from *Thermotoga naphthophila* RKU-10. *Journal of Basic Microbiology* 56 (9): 949–62.
- Ferguson, B. A., T. A. Dreisbach, C. G. Parks, G. M. Filip, a C. L. Schmitt. 2003. Coarse-scale population structure of pathogenic *Armillaria* species in a mixed-conifer forest in the blue mountains of northeast Oregon. *Canadian Journal of Forest Research* 33 (4): 612–23.
- Ferraz, A., a N. Durán. 1995. Lignin degradation during softwood decaying by the ascomycete *Chrysonilia sitophila*. *Biodegradation* 6 (4): 265–74.
- Festenstein, G. N. 1958. Substrates for rumen beta-glucosidase. *The Biochemical Journal* 70 (1): 49–51.
- Finlay, B. J., G. Esteban, K. J. Clarke, A. G. Williams, T. M. Embley, a R. P. Hirt. 1994. Some rumen ciliates have endosymbiotic methanogens. *FEMS Microbiology Letters* 117 (2): 157–61.

- Foreman, P. K., D. Brown, L. Dankmeyer, R. Dean, S. Diener, N. S. Dunn-Coleman, F. Goedegebuur, et al. 2003. Transcriptional regulation of biomass-degrading enzymes in the filamentous fungus *Trichoderma reesei*. *Journal of Biological Chemistry* 278 (34): 31988–97.
- Forsberg, Z., G. Vaaje-Kolstad, B. Westereng, A. C. Bunæs, Y. Stenstrøm, A. MacKenzie, M. Sørli, S. J. Horn, a V. G. H. Eijsink. 2011. Cleavage of cellulose by a CBM33 protein. *Protein Science* 20 (9): 1479–83.
- Goodell, B., J. Jellison, J. Liu, G. Daniel, A. Paszczynski, F. Fekete, S. Krishnamurthy, L. Jun, a G. Xu. 1997. Low molecular weight chelators and phenolic compounds isolated from wood decay fungi and their role in the fungal biodegradation of wood. *Journal of Biotechnology* 53 (2–3): 133–62.
- Gramss, G. 2007. Influence of soil on wood-degradation and fruit body formation by parasites and saprophytes among wood-destroying basidiomycetous fungi. *Zeitschrift Für Allgemeine Mikrobiologie* 20 (10): 613–17.
- Gruninger, R. J., A. K. Puniya, T. M. Callaghan, J. E. Edwards, N. Youssef, S. S. Dagar, K. Fliegerova, et al. 2014. Anaerobic fungi (phylum Neocallimastigomycota): Advances in understanding their taxonomy, life cycle, ecology, role and biotechnological potential. *FEMS Microbiology Ecology* 90 (1): 1–17.
- Gusakov, A. V. 2011. Alternatives to *Trichoderma reesei* in biofuel production. *Trends in Biotechnology* 29 (9): 419–25.
- Hackstein, J. H., a C. K. Stumm. 1994. Methane production in terrestrial arthropods. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91 (12): 5441–45.
- Hamed, S. A. M. 2013. In-vitro studies on wood degradation in soil by soft-rot fungi: *Aspergillus niger* and *Penicillium chrysogenum*. *International Biodeterioration & Biodegradation* 78: 98–102.
- Harcus, D., D. Dignard, G. Lépine, C. Askew, M. Raymond, M. Whiteway, a C. Wu. 2013. Comparative xylose metabolism among the ascomycetes *C. albicans*, *S. stipitis* and *S. cerevisiae*. *PLOS ONE* 8 (11): e80733.
- Heath, E. C., Jerard Hurwitz, B. L. Horecker, a A. Ginsburg. 1958. Pentose fermentation by *Lactobacillus plantarum* i. the cleavage of xylulose 5-phosphate by phosphoketolase. *Journal of Biological Chemistry* 231 (2): 1009–29.
- Henriksson, G., G. Johansson, a G. Pettersson. 2000. A critical review of cellobiose dehydrogenases. *Journal of Biotechnology* 78 (2): 93–113.
- Hieta, K., S. Kuga, a M. Usuda. 1984. Electron staining of reducing ends evidences a parallel-chain structure in *Valonia* cellulose. *Biopolymers* 23 (10): 1807–10.
- Ho, N. W. Y., Z. Chen, a A. P. Brainard. 1998. Genetically engineered *Saccharomyces* yeast capable of effective cofermentation of glucose and xylose. *Applied and Environmental Microbiology* 64 (5): 1852–59.
- Hofer, M., A. Betz, a A. Kotyk. 1971. Metabolism of the obligatory aerobic yeast *Rhodotorula gracilis* IV. Induction of an enzyme necessary for D-xylose catabolism. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* 252 (1): 1–12.
- Hochster, R. M., a R. W. Watson. 1953. Xylose isomerase. *Journal of the American Chemical Society* 75 (13): 3284–85.
- Hongoh, Y., V. K. Sharma, T. Prakash, S. Noda, H. Toh, T. D. Taylor, T. Kudo, et al. 2008. Genome of an endosymbiont coupling N2 fixation to cellulolysis within protist cells in termite gut. *Science (New York, N.Y.)* 322 (5904): 1108–9.

- Hori, C., J. Gaskell, K. Igarashi, M. Samejima, D. Hibbett, B. Henrissat, a D. Cullen. 2013. Genomewide analysis of polysaccharides degrading enzymes in 11 white- and brown-rot Polyporales provides insight into mechanisms of wood decay. *Mycologia* 105 (6): 1412–27.
- Hristov, A. N., M. Ivan, L. M. Rode, a T. A. McAllister. 2001. Fermentation characteristics and ruminal ciliate protozoal populations in cattle fed medium- or high-concentrate barley-based diets. *Journal of Animal Science* 79 (2): 515–24.
- Huang, Y.-H., C.-T. Huang, a R.-S. Hseu. 2005. Effects of dockerin domains on *Neocallimastix frontalis* xylanases. *FEMS Microbiology Letters* 243 (2): 455–60.
- Hucho, F., a K. Wallenfels. 1971. The enzymatically catalyzed mutarotation. *European Journal of Biochemistry* 23 (3): 489–96.
- Hyodo, F., T. Inoue, J.-I. Azuma, I. Tayasu, a T. Abe. 2000. Role of the mutualistic fungus in lignin degradation in the fungus-growing termite *Macrotermes gilvus* (Isoptera; Macrotermitinae). *Soil Biology and Biochemistry* 32 (5): 653–58.
- Hyodo, F., I. Tayasu, T. Inoue, J.-I. Azuma, T. Kudo, a T. Abe. 2003. Differential role of symbiotic fungi in lignin degradation and food provision for fungus-growing termites (Macrotermitinae: Isoptera). *Functional Ecology* 17 (2): 186–93.
- Chang, C., B. C. Park, D.-S. Lee, a S. W. Suh. 1999. Crystal structures of thermostable xylose isomerases from *Thermus caldophilus* and *Thermus thermophilus*: possible structural determinants of thermostability. *Journal of Molecular Biology* 288 (4): 623–34.
- Chararas, C., R. Eberhard, J. E. Courtois, a F. Petek. 1983. Purification of three cellulases from the xylophagous larvae of *Ergates faber* (Coleoptera:Cerambycidae). *Insect Biochemistry* 13 (2): 213–18.
- Chiang, C., a S. G. Knight. 1960. Metabolism of D-Xylose by moulds. *Nature* 188 (4744): 79–81.
- Choi, S. Y., W. J. Kim, S. J. Yu, S. J. Park, S. G. Im, a S. Y. Lee. 2017. Engineering the xylose-catabolizing Dahms pathway for production of poly(D-lactate-co-glycolate) and poly(D-lactate-co-glycolate-co-D-2-hydroxybutyrate) in *Escherichia coli*. *Microbial Biotechnology*, duben.
- Im, K. H., T. K. Nguyen, J. Choi, a T. S. Lee. 2016. Ethanol production from various sugars and cellulosic biomass by white rot fungus *Lenzites betulinus*. *Mycobiology* 44 (1): 48–53.
- Imjongjirak, C., P. Amparyup, a S. Sittipraneed. 2008. Cloning, genomic organization and expression of two glycosyl hydrolase Family 10 (GHF10) genes from Golden apple snail (*Pomacea canaliculata*). *DNA Sequence: The Journal of DNA Sequencing and Mapping* 19 (3): 224–36.
- Inoue, T., K. Murashima, J.-I. Azuma, A. Sugimoto, a M. Slaytor. 1997. Cellulose and xylan utilisation in the lower termite *Reticulitermes speratus*. *Journal of Insect Physiology* 43 (3): 235–42.
- Irbis, C., a K. Ushida. 2004. Detection of methanogens and proteobacteria from a single cell of rumen ciliate protozoa. *The Journal of General and Applied Microbiology* 50 (4): 203–12.
- Irwin, D., D.-H. Shin, S. Zhang, B. K. Barr, J. Sakon, P. A. Karplus, a D. B. Wilson. 1998. Roles of the catalytic domain and two cellulose binding domains of *Thermomonospora fusca* E4 in cellulose hydrolysis. *Journal of Bacteriology* 180 (7): 1709–14.
- Jeffries, T. W. 1983. Utilization of xylose by bacteria, yeasts, and fungi. In *Pentoses and Lignin*, 27:1–32. Berlin/Heidelberg: Springer-Verlag.

- Johnsen, U., M. Dambeck, H. Zaiss, T. Fuhrer, J. Soppa, U. Sauer, a P. Schönheit. 2009. D-Xylose degradation pathway in the halophilic archaeon *Haloferax volcanii*. *Journal of Biological Chemistry* 284 (40): 27290–303.
- Johnsen, U., J.-M. Sutter, H. Zaiß, a P. Schönheit. 2013. L-Arabinose degradation pathway in the haloarchaeon *Haloferax volcanii* involves a novel type of L-arabinose dehydrogenase. *Extremophiles* 17 (6): 897–909.
- Kaji, A., a T. Saheki. 1975. Endo-arabinanase from *Bacillus subtilis* F-11. *Biochimica Et Biophysica Acta* 410 (2): 354–60.
- Kausrud, H., I. B. Svegård, G.-P. Saetre, H. Knudsen, Ø. Stensrud, O. Schmidt, S. Doi, T. Sugiyama, a N. Högborg. 2007. Asian origin and rapid global spread of the destructive dry rot fungus *Serpula lacrymans*. *Molecular Ecology* 16 (16): 3350–60.
- Kerff, F., A. Amoroso, R. Herman, E. Sauvage, S. Petrella, P. Filée, P. Charlier, et al. 2008. Crystal structure and activity of *Bacillus subtilis* YoaJ (EXLX1), a bacterial expansin that promotes root colonization. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105 (44): 16876–81.
- Kim, Y. A., a K.-H. Yoon. 2010. Characterization of a *Paenibacillus woosongensis* beta-xylosidase/alpha-arabinofuranosidase produced by recombinant *Escherichia coli*. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 20 (12): 1711–16.
- Koeck, D. E., A. Pechtl, V. V. Zverlov, a W. H. Schwarz. 2014. Genomics of cellulolytic bacteria. *Current Opinion in Biotechnology, Cell and Pathway Engineering*, 29: 171–83.
- Kohler, T., C. Dietrich, R. H. Scheffrahn, a A. Brune. 2012. High-resolution analysis of gut environment and bacterial microbiota reveals functional compartmentation of the gut in wood-feeding higher termites (*Nasutitermes spp.*). *Applied and Environmental Microbiology* 78 (13): 4691–4701.
- Kristo, P., R. Saarelainen, R. Fagerstrom, S. Aho, a M. Korhola. 1996. Protein purification, and cloning and characterization of the cDNA and gene for xylose isomerase of barley. *European Journal of Biochemistry* 237 (1): 240–46.
- Lamed, R., E. Setter, R. Kenig, a E. A. Bayer. 1983. Cellulosome: a discrete cell surface organelle of *Clostridium thermocellum* which exhibits separate antigenic, cellulose-binding and various cellulolytic activities. *Biotechnol. Bioeng. Symp.; (United States)* 13 (leden).
- Latham, M. J., a M. J. Wolin. 1977. Fermentation of cellulose by *Ruminococcus flavefaciens* in the presence and absence of *Methanobacterium ruminantium*. *Applied and Environmental Microbiology* 34 (3): 297–301.
- Le Costaouëc, T., A. Pakarinen, A. Várnai, T. Puranen, a L. Viikari. 2013. The role of carbohydrate binding module (CBM) at high substrate consistency: Comparison of *Trichoderma reesei* and *Thermoascus aurantiacus* Cel7A (CBHI) and Cel5A (EGII). *Bioresource Technology* 143: 196–203.
- Lo, N., H. Watanabe, a M. Sugimura. 2003. Evidence for the presence of a cellulase gene in the last common ancestor of bilaterian animals. *Proceedings. Biological Sciences* 270 Suppl 1 (srpen): S69-72.
- Lowe, S. E., M. K. Theodorou, a A. P. Trinci. 1987. Growth and fermentation of an anaerobic rumen fungus on various carbon sources and effect of temperature on development. *Applied and Environmental Microbiology* 53 (6): 1210–15.
- Lynd, L. R., P. J. Weimer, W. H. van Zyl, a I. S. Pretorius. 2002. Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 66 (3): 506–77.

- MacKenzie, C. R., D. Bilous, a K. G. Johnson. 1984. Purification and characterization of an exoglucanase from *Streptomyces flavogriseus*. *Canadian Journal of Microbiology* 30 (9): 1171–78.
- Mackie, R. I., F. M. C. Gilchrist, A. M. Robberts, P. E. Hannah, a H. M. Schwartz. 1978. Microbiological and chemical changes in the rumen during the stepwise adaptation of sheep to high concentrate diets. *The Journal of Agricultural Science* 90 (02): 241.
- Madhavan, A., S. Tamalampudi, K. Ushida, D. Kanai, S. Katahira, A. Srivastava, H. Fukuda, V. S. Bisaria, a A. Kondo. 2009. Xylose isomerase from polycentric fungus *Orpinomyces*: gene sequencing, cloning, and expression in *Saccharomyces cerevisiae* for bioconversion of xylose to ethanol. *Applied Microbiology and Biotechnology* 82 (6): 1067–78.
- Maehara, T., K. Takabatake, a S. Kaneko. 2013. Expression of *Arabidopsis thaliana* xylose isomerase gene and its effect on ethanol production in *Flammulina velutipes*. *Fungal Biology* 117 (11–12): 776–82.
- Mardanov, A. V., T. V. Kochetkova, A. V. Beletsky, E. A. Bonch-Osmolovskaya, N. V. Ravin, a K. G. Skryabin. 2012. Complete genome sequence of the hyperthermophilic cellulolytic crenarchaeon “*Thermogladius cellulolyticus*” 1633. *Journal of Bacteriology* 194 (16): 4446–47.
- Markov, A. V., A. V. Gusakov, E. G. Kondratyeva, O. N. Okunev, A. O. Bekkarevich, a A. P. Sinitsyn. 2005. New effective method for analysis of the component composition of enzyme complexes from *Trichoderma reesei*. *Biochemistry (Moscow)* 70 (6): 657–63.
- Martin, M. M., a J. S. Martin. 1978. Cellulose digestion in the midgut of the fungus-growing termite *Macrotermes natalensis*: The role of acquired digestive enzymes. *Science* 199 (4336): 1453–55.
- . 1979. The distribution and origins of the cellulolytic enzymes of the higher termite, *Macrotermes natalensis*. *Physiological Zoology* 52 (1): 11–21.
- Marx-Figini, Von M., a G. V. Schulz. 1963. Neuere Untersuchungen über Größe und Größenverteilung der β -glukosidischen Ketten Nativer Cellulosen. *Die Makromolekulare Chemie* 62 (1): 49–65.
- Mba Medie, F., G. J. Davies, M. Drancourt, a B. Henrissat. 2012. Genome analyses highlight the different biological roles of cellulases. *Nature Reviews. Microbiology* 10 (3): 227–34.
- McFee, W. W., a E. L. Stone. 1966. The persistence of decaying wood in the humus layers of northern forests. *Soil Science Society of America Journal* 30 (4): 513.
- Miyata, R., N. Noda, H. Tamaki, K. Kinjo, H. Aoyagi, H. Uchiyama, a H. Tanaka. 2007. Influence of feed components on symbiotic bacterial community structure in the gut of the wood-feeding higher termite *Nasutitermes takasagoensis*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 71 (5): 1244–51.
- Morris, J. E., a N. O. Van Gylswyk. 1980. Comparison of the action of rumen bacteria on cell walls from *Eragrostis tef*. *The Journal of Agricultural Science* 95 (02): 313.
- Mountfort, D. O., a R. A. Asher. 1983. Role of catabolite regulatory mechanisms in control of carbohydrate utilization by the rumen anaerobic fungus *Neocallimastix frontalis*. *Applied and Environmental Microbiology* 46 (6): 1331–38.
- Nieves, R. A., C. I. Ehrman, W. S. Adney, R. T. Elander, a M. E. Himmel. 1997. Survey and analysis of commercial cellulase preparations suitable for biomass conversion to ethanol. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 14 (2): 301–4.
- Nikolaidis, N., N. Doran, a D. J. Cosgrove. 2014. Plant expansins in bacteria and fungi: evolution by horizontal gene transfer and independent domain fusion. *Molecular Biology and Evolution* 31 (2): 376–86.

- Novick, N. J., a M. E. Tyler. 1982. L-Arabinose metabolism in *Azospirillum brasiliense*. *Journal of Bacteriology* 149 (1): 364–67.
- Odelson, D. A., a J. A. Breznak. 1983. Volatile fatty acid production by the hindgut microbiota of xylophagous termites. *Applied and Environmental Microbiology* 45 (5): 1602–13.
- Ohara, H., S. Karita, T. Kimura, K. Sakka, a K. Ohmiya. 2000. Characterization of the cellulolytic complex (cellulosome) from *Ruminococcus albus*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 64 (2): 254–60.
- Okamoto, K., R. Kanawaku, M. Masumoto, a H. Yanase. 2012. Efficient xylose fermentation by the brown rot fungus *Neolentinus lepideus*. *Enzyme and Microbial Technology* 50 (2): 96–100.
- Okamoto, K., A. Uchii, R. Kanawaku, a H. Yanase. 2014. Bioconversion of xylose, hexoses and biomass to ethanol by a new isolate of the white rot basidiomycete *Trametes versicolor*. *SpringerPlus* 3 (březen).
- Orpin, C. G. 1977. The occurrence of chitin in the cell walls of the rumen organisms *Neocallimastix frontalis*, *Piromonas communis* and *Sphaeromonas communis*. *Journal of General Microbiology* 99 (1): 215–18.
- Orpin, Colin G., a Andrew J. Letcher. 1979. Utilization of cellulose, starch, xylan, and other hemicelluloses for growth by the rumen phycomycete *Neocallimastix frontalis*. *Current Microbiology* 3 (2): 121–24.
- Paulova, L., P. Pataková, B. Branska, M. Rychtera, a K. Melzoch. 2015. Lignocellulosic ethanol: Technology design and its impact on process efficiency. *Biotechnology Advances*, BioTech 2014 and 6th Czech-Swiss Biotechnology Symposium, 33 (6, Part 2): 1091–1107.
- Pauly, M., a K. Keegstra. 2008. Cell-wall carbohydrates and their modification as a resource for biofuels. *The Plant Journal* 54 (4): 559–68.
- Perevalova, A. A. 2005. *Desulfurococcus fermentans* sp. nov., a novel hyperthermophilic archaeon from a Kamchatka hot spring, and emended description of the genus *Desulfurococcus*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology* 55 (3): 995–99.
- Petersen, L., A. Ardèvol, C. Rovira, a P. J. Reilly. 2009. Mechanism of cellulose hydrolysis by inverting GH8 endoglucanases: A QM/MM metadynamics study. *The Journal of Physical Chemistry B* 113 (20): 7331–39.
- Peterson, B. F., H. L. Stewart, a M. E. Scharf. 2015. Quantification of symbiotic contributions to lower termite lignocellulose digestion using antimicrobial treatments. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 59 (duben): 80–88.
- Phillips, C. M., W. T. Beeson, J. H. Cate, a M. A. Marletta. 2011. Cellobiose dehydrogenase and a copper-dependent polysaccharide monooxygenase potentiate cellulose degradation by *Neurospora crassa*. *ACS Chemical Biology* 6 (12): 1399–1406.
- Pierce, B. C., J. Wittrup Agger, J. Wichmann, a A. S. Meyer. 2017. Oxidative cleavage and hydrolytic boosting of cellulose in soybean spent flakes by *Trichoderma reesei* Cel61A lytic polysaccharide monooxygenase. *Enzyme and Microbial Technology* 98 (březen): 58–66.
- Prins, R. A., a D. A. Kreulen. 1991. Comparative aspects of plant cell wall digestion in insects. *Animal Feed Science and Technology*, Cell Walls: Structure - Biodegradation - Utilisation, 32 (1): 101–18.
- Reese, E. T., Ralph G. H. Siu, a H. S. Levinson. 1950. The biological degradation of soluble cellulose derivatives and its relationship to the mechanism of cellulose hydrolysis. *Journal of Bacteriology* 59 (4): 485–97.

- Ries, L., S. T Pullan, S. Delmas, S. Malla, M. J. Blythe, a D. B. Archer. 2013. Genome-wide transcriptional response of *Trichoderma reesei* to lignocellulose using RNA sequencing and comparison with *Aspergillus niger*. *BMC Genomics* 14 (1): 541.
- Rossmassler, K., C. Dietrich, C. Thompson, A. Mikaelyan, J. O. Nonoh, R. H. Scheffrahn, D. Sillam-Dussès, a A. Brune. 2015. Metagenomic analysis of the microbiota in the highly compartmented hindguts of six wood- or soil-feeding higher termites. *Microbiome* 3 (listopad): 56.
- Saloheimo, M., M. Paloheimo, S. Hakola, J. Pere, B. Swanson, E. Nyysönen, A. Bhatia, M. Ward, a M. Penttilä. 2002. Swollenin, a *Trichoderma reesei* protein with sequence similarity to the plant expansins, exhibits disruption activity on cellulosic materials. *European Journal of Biochemistry* 269 (17): 4202–11..
- Savory, J. G. 1954. Breakdown of timber by Ascomycetes and Fungi Imperfecti. *Annals of Applied Biology* 41 (2): 336–47.
- Seiboth, B., C. Gamauf, M. Pail, L. Hartl, a C. P. Kubicek. 2007. The D-xylose reductase of *Hypocrea jecorina* is the major aldose reductase in pentose and D-galactose catabolism and necessary for β -galactosidase and cellulase induction by lactose. *Molecular Microbiology* 66 (4): 890–900.
- Seiboth, B., a B. Metz. 2011. Fungal arabinan and L-arabinose metabolism. *Applied Microbiology and Biotechnology* 89 (6): 1665–73.
- Sharma, A., R. Tewari, S. S. Rana, R. Soni, a S. K. Soni. 2016a. Cellulases: classification, methods of determination and industrial applications. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 179 (8): 1346–80.
- Shelomi, M., H. Watanabe, a G. Arakawa. 2014. Endogenous cellulase enzymes in the stick insect (*Phasmatodea*) gut. *Journal of Insect Physiology* 60 (leden): 25–30.
- Sheth, K., a J. K. Alexander. 1969. Purification and properties of beta-1,4-oligoglucan:orthophosphate glucosyltransferase from *Clostridium thermocellum*. *The Journal of Biological Chemistry* 244 (2): 457–64.
- Shi, Y., Z. Huang, S. Han, S. Fan, a H. Yang. 2015. Phylogenetic diversity of archaea in the intestinal tract of termites from different lineages. *Journal of Basic Microbiology* 55 (8): 1021–28.
- Shrestha, P., S. K. Khanal, A. L. Pometto, a J. (H.) van Leeuwen. 2009. Enzyme production by wood-rot and soft-rot fungi cultivated on corn fiber followed by simultaneous saccharification and fermentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57 (10): 4156–61.
- Schellenberg, G. D., A. Sarthy, A. E. Larson, M. P. Backer, J. W. Crabb, M. Lidstrom, B. D. Hall, a C. E. Furlong. 1984. Xylose isomerase from *Escherichia coli*. Characterization of the protein and the structural gene. *Journal of Biological Chemistry* 259 (11): 6826–32.
- Schmidhalter, D. R., a G. Canevascini. 1992. Characterization of the cellulolytic enzyme system from the brown-rot fungus *Coniophora puteana*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 37 (4).
- Simpson, F. J., a W. A. Wood. 1958. Degradation of L-arabinose by *Aerobacter aerogenes* II. Purification and properties of L-ribulokinase. *Journal of Biological Chemistry* 230 (1): 473–86.
- Slein, M. W. 1955. Xylose isomerase from *Pasteurella pestis*, strain A-11221. *Journal of the American Chemical Society* 77 (6): 1663–67.
- Souza, A. C. de, F. P. Carvalho, C. F. S. e Batista, R. F. Schwan, a D. R. Dias. 2013. Sugarcane bagasse hydrolysis using yeast cellulolytic enzymes. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 23 (10): 1403–12.

- Steenbakkens, P. J. M., X.-L. Li, E. A. Ximenes, J. G. Arts, H. Chen, L. G. Ljungdahl, a H. J. M. Op den Camp. 2001. Nuncatalytic docking domains of cellulosomes of anaerobic fungi. *Journal of Bacteriology* 183 (18): 5325–33.
- Stephens, C., B. Christen, T. Fuchs, V. Sundaram, K. Watanabe, a U. Jenal. 2007. Genetic analysis of a novel pathway for D-xylose metabolism in *Caulobacter crescentus*. *Journal of Bacteriology* 189 (5): 2181–85.
- Strobel, H. J., a K. A. Dawson. 1993. Xylose and arabinose utilization by the rumen bacterium *Butyrivibrio fibrisolvens*. *FEMS Microbiology Letters* 113 (3): 291–96.
- Stumpf, P. K., a B. L. Horecker. 1956. The Rôle of xylulose 5-phosphate in xylose metabolism of *Lactobacillus pentosus*. *Journal of Biological Chemistry* 218 (2): 753–68.
- Sumizu, K., M. Yoshikawa, a S. Tanaka. 1961. Studies on xylanase of *Pericularia oryzae*. *Journal of Biochemistry* 50 (prosinec): 538–43.
- Tajima, K., R. I. Aminov, T. Nagamine, K. Ogata, M. Nakamura, H. Matsui, a Y. Benno. 1999. Rumen bacterial diversity as determined by sequence analysis of 16S rDNA libraries. *FEMS Microbiology Ecology* 29 (2): 159–69.
- Teeri, T. T., A. Koivula, M. Linder, G. Wohlfahrt, C. Divne, a T. A. Jones. 1998. *Trichoderma reesei* cellobiohydrolases: why so efficient on crystalline cellulose? *Biochemical Society Transactions* 26 (2): 173–78.
- Teng, Y., Q. Yin, M. Ding, a F. Zhao. 2010. Purification and characterization of a novel endo- β -1,4-glucanases , AfEG22, from the Giant Snail, *Achatina fulica frussac*. *Acta Biochimica Et Biophysica Sinica* 42 (10): 729–34.
- Tokuda, G., N. Lo, a H. Watanabe. 2005. Marked variations in patterns of cellulase activity against crystalline- vs. carboxymethyl-cellulose in the digestive systems of diverse, wood-feeding termites. *Physiological Entomology* 30 (4): 372–80.
- Tokuda, G., N. Lo, H. Watanabe, G. Arakawa, T. Matsumoto, a H. Noda. 2004. Major alteration of the expression site of endogenous cellulases in members of an apical termite lineage: evolution of cellulose digestion in termites. *Molecular Ecology* 13 (10): 3219–28.
- Tomme, P., E. Kwan, N. R. Gilkes, D. G. Kilburn, a R. A. Warren. 1996. Characterization of CenC, an enzyme from *Cellulomonas fimi* with both endo- and exoglucanase activities. *Journal of Bacteriology* 178 (14): 4216–23.
- Tomoyeda, M., a H. Horitsu. 1964. Pentose metabolism by *Candida utilis*: Part I. Xylose isomerase. *Agricultural and Biological Chemistry* 28 (3): 139–43.
- Vane, C. H., T. C. Drage, C. E. Snape, M. H. Stephenson, a C. Foster. 2005. Decay of cultivated apricot wood (*Prunus armeniaca*) by the ascomycete *Hypocrea sulphurea*, using solid state ¹³C NMR and off-line TMAH thermochemolysis with GC–MS. *International Biodeterioration & Biodegradation* 55 (3): 175–85.
- Veivers, P. C., R. W. O'Brien, a M. Slaytor. 1983. Selective defaunation of *Mastotermes darwiniensis* and its effect on cellulose and starch metabolism. *Insect Biochemistry* 13 (1): 95–101.
- Vongsuvanlert, V., a Y. Tani. 1988. Purification and characterization of xylose isomerase of a methanol yeast, *Candida boidinii*, which is involved in sorbitol production from glucose. *Agricultural and Biological Chemistry* 52 (7): 1817–24.
- Wang, G., H. Luo, K. Meng, Y. Wang, H. Huang, P. Shi, X. Pan, et al. 2011. High genetic diversity and different distributions of glycosyl hydrolase family 10 and 11 xylanases in the goat rumen. *PloS One* 6 (2): e16731.
- Wang, C., Y. Shen, Y. Zhang, F. Suo, J. Hou, a X. Bao. 2013. Improvement of L-arabinose fermentation by modifying the metabolic pathway and transport in *Saccharomyces cerevisiae*. *BioMed Research International* 2013: 461204. doi:10.1155/2013/461204.

- Watanabe, H., H. Noda, G. Tokuda, a N. Lo. 1998. A cellulase gene of termite origin. *Nature* 394 (6691): 330–31.
- Watanabe, H., a G. Tokuda. 2010. Cellulolytic systems in insects. *Annual Review of Entomology* 55 (1): 609–32.
- Weimberg, R., a M. Doudoroff. 1955. The oxidation of L-arabinose by *Pseudomonas saccharophila*. *The Journal of Biological Chemistry* 217 (2): 607–24.
- Weimberg, R. 1961. Pentose oxidation by *Pseudomonas fragi*. *Journal of Biological Chemistry* 236 (3): 629–35.
- Wenger, J. W., K. Schwartz, a G. Sherlock. 2010. Bulk segregant analysis by high-throughput sequencing reveals a novel xylose utilization gene from *Saccharomyces cerevisiae*. *PLOS Genetics* 6 (5): e1000942.
- White, A., a D. R. Rose. 1997. Mechanism of catalysis by retaining β -glycosyl hydrolases. *Current Opinion in Structural Biology* 7 (5): 645–51.
- Wiebe, M. G., Y. Nygård, M. Oja, M. Andberg, L. Ruohonen, A. Koivula, M. Penttilä, a M. Toivari. 2015. A novel aldose-aldose oxidoreductase for co-production of D-xylonate and xylitol from D-xylose with *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 99 (22): 9439–47.
- Williams, A. G. 1979. Exocellular carbohydrase formation by rumen holotrich ciliates. *The Journal of Protozoology* 26 (4): 665–72.
- Williams, A. G., A. B. Ellis, a G. S. Coleman. 1986. Subcellular distribution of polysaccharide depolymerase and glycoside hydrolase enzymes in rumen ciliate protozoa. *Current Microbiology* 13 (3): 139–47.
- Witteveen, C. F. B., R. Busink, P. Van De Vondervoort, C. Dijkema, K. Swart, a J. Visser. 1989. L-Arabinose and D-xylose catabolism in *Aspergillus niger*. *Microbiology* 135 (8): 2163–71.
- Worrall, J. J. 1983. Inhibition of wood-decay fungi by wetwood of white fir. *Phytopathology* 73 (8): 1140.
- www.uniprot.org. „family: ‚xylose isomerase family’ AND reviewed:yes in UniProtKB.“ Viděno 12. dubna 2017. <http://www.uniprot.org/uniprot/?query=family:%22xylose%20isomerase%20family%22&fil=reviewed%3Ayes&columns=id,entry%20name,reviewed,protein%20names,genes,organism,length&desc=no&sort=organism#orgViewBy>.
- Xiao, W.-L. 2015. Cellulase activity in higher and lower wood-feeding termites. *Sociobiology* 59 (4): 1157–66.
- Xu, G., a B. Goodell. 2001. Mechanisms of wood degradation by brown-rot fungi: chelator-mediated cellulose degradation and binding of iron by cellulose. *Journal of Biotechnology* 87 (1): 43–57.
- Yuan, S.-F., T.-H. Wu, H.-L. Lee, H.-Y. Hsieh, W.-L. Lin, B. Yang, C.-K. Chang, et al. 2015. Biochemical characterization and structural analysis of a bifunctional cellulase/xylanase from *Clostridium thermocellum*. *The Journal of Biological Chemistry* 290 (9): 5739–48.
- Yuki, M., H. Kuwahara, M. Shintani, K. Izawa, T. Sato, D. Starns, Y. Hongoh, a M. Ohkuma. 2015. Dominant ectosymbiotic bacteria of cellulolytic protists in the termite gut also have the potential to digest lignocellulose. *Environmental Microbiology* 17 (12): 4942–53.
- Zhang, M., C. Eddy, K. Deanda, M. Finkelstein, a S. Picataggio. 1995. Metabolic engineering of a pentose metabolism pathway in ethanologenic *Zymomonas mobilis*. *Science (New York, N.Y.)* 267 (5195): 240–43. doi:10.1126/science.267.5195.240.

Seznam ilustrací

Ilustrace 1: Celobióza	2
Zdroj: Autor: NEUROtiker – Vlastní dílo, volné dílo, https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=2951911	
Ilustrace 2: Vodíkové můstky mezi celulózovými vlákny.....	3
Zdroj: Autor: Laghi.l - http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Cellulose_strand.jpg , CC BY-SA 3.0, https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=26213703	
Ilustrace 3: Dřevo postihlé bílou hnilobou.....	13
Zdroj: Autor: Jerzy Opiola – Vlastní dílo, CC BY-SA 3.0, https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=25121053	
Ilustrace 4: Dřevo postihlé hnědou hnilobou.....	14
Zdroj: CC BY-SA 3.0, https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=1098821	
Ilustrace 5: Dřevěná stavba napadená houbou měkké hniloby z rodu Chaetomium.....	15
Zdroj: Autor: Natascha Kraemer, http://schimmelbutze.de – http://schimmelbutze.de/schimmelpilze/chaetomium.php , CC BY-SA 3.0 de, https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=34176858	
Ilustrace 6: Prvok <i>Trichonympha campanula</i> izolovaný z termita <i>Zootermopsis angusticollis</i> . Grafické měřítko má délku 50 µm.....	18
Zdroj: Autoři: Tai V, James ER, Perlman SJ, Keeling PJ - Tai V, James ER, Perlman SJ, Keeling PJ (2013). Single-cell DNA barcoding using sequences from the small subunit rRNA and internal transcribed spacer region identifies new species of <i>Trichonympha</i> and <i>Trichomitopsis</i> from the hindgut of the termite <i>Zootermopsis angusticollis</i> . PLoS ONE 8 (3): e58728. DOI:10.1371/journal.pone.0058728., CC BY 2.5, https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=38897123	